



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

**Tesis Doctoral**

**Efectos del ejercicio en condiciones de normopeso y obesidad:  
Estudios en animales y humanos**

Doctorando:

**Igor Iván Cigarroa Cuevas**

Dirigida por:

**Rosa María Escorihuela Agulló**

**Doctorado en Neurociencias**

Departament de Psiquiatria i Medicina Legal, Institut de Neurociències, Facultat de  
Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona (Catalunya)

Barcelona, noviembre del 2016

Las investigaciones de esta tesis fueron realizadas gracias a los siguientes proyectos y becas:

- HRV y parámetros cognitivo-conductuales como marcadores de diferencias individuales en una intervención para mejorar la adherencia a estilos de vida saludables. Dirección General de Investigación (PSI2011-29807-C02-01)
- Beca de perfeccionamiento conducente a grado académico
- Beca CONICYT/BECA CHILE/PAI 72150035

---

*Rosa María Escorihuela Agulló*

---

*Igor Cigarroa Cuevas*





Este trabajo de tesis se ha realizado en el Instituto de Neurociencias y en el Departamento de Psiquiatría y Medicina Legal de la Universidad Autónoma de Barcelona (España), y en el Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la Carrera de Kinesiología de la Universidad Santo Tomás, Los Ángeles (Chile) de septiembre del 2012 a noviembre del 2016.



Esta tesis doctoral está sujeta a una licencia *Creative Commons* (CC): No comercial-sin obras derivadas (BY-NC-ND)



*Si siempre pones límite a cada cosa que hagas, ya sea física o de cualquier otro tipo, se mezclarán en tu trabajo y en tu vida. No hay límites, solo hay barreras, y no debes pararte ahí, debes ir más allá.*

**Bruce Lee**

*La salud física no es solo una de las más importantes claves para un cuerpo saludable, es el fundamento de la actividad intelectual creativa y dinámica.*

**John F. Kennedy**

*El médico del futuro no tratará el cuerpo humano con medicamentos, más bien curará y prevendrá las enfermedades con la nutrición.*

**Thomas Edison**



## Agradecimientos

Las grandes tareas se hacen con gran esfuerzo y con la ayuda de muchas personas. Esta tesis no es una excepción a la regla y para que este proceso académico haya culminado satisfactoriamente muchas personas ayudaron directa e indirectamente. Intentaré ser justo y espero no me falle la memoria y agradecer a todos quienes la hicieron posible.

Agradecer A Rosa María por todo el conocimiento, experiencia y sabiduría que me ha sabido entregar directa e indirectamente con cada consejo, reunión y conversación. Estoy infinitamente agradecido por formarme como investigador y alentarme a ser más riguroso, metódico y sobre todo responsable y juicioso con cada uno de mis actos. Agradezco además que me haya dado el tiempo y espacio para explorar facetas ocultas en mi compleja personalidad como la de divulgador, escritor, monologuista y aprendiz de mago.

Tengo que agradecer a muchas personas que estuvieron durante el doctorado, en primer lugar a Ignasi Oliveras, Ana Sánchez, Carlos Herrera, Danny, Sira, Andrea Raez, Oier Pastor, Dany Torregrosa con quienes compartí el despacho de la M5/132 y tuve, con algunos más que otros, largas e instructivas conversaciones y entretenidos almuerzos y desayunos. En particular agradezco a Jaume por ser un gran amigo, compañero y guía en todo este proceso. No quiero olvidar de agradecer a Cristóbal del Rio, Carles Tapias, Aitor Esnal, Cristina quienes con el tiempo fueron apareciendo y formaron parte de mi cotidianidad en la facultad de medicina y eran normalmente a quienes recurría cuando necesitaba un consejo rápido. Por otra parte, agradezco a los técnicos y las personas que trabajan en el estabulario de la UAB y de psicología de la UB que me ayudaron y enseñaron todo lo necesario sobre estabulación, cuidado y correcto manejo de animales de experimentación al inicio de mi doctorado en los experimentos hechos en ratas y ratones. Además, quiero agradecer al equipo del CTNS; Toni Caimari, Josep del Bas, Noemí Boqué, Cristina Domenech, Silvia Pijuan y Lluís Arola con quienes compartí en mi estancia en Reus y que amablemente me enseñaron prácticamente todo lo que se sabe sobre dieta cafetería.

Quiero agradecer a los equipos de trabajo con los que tuve el placer de colaborar durante estos años. Si bien, los resultados de esas investigaciones no se ven reflejados en esta tesis, el poder compartir con ellos, escucharlos y trabajar en equipo fue muy enriquecedor en mi formación. Al equipo de Health & SportLab; a Lluís Capdevila y a Jordi Moreno con quienes me introduje en el mundo de la HRV. A la Unidad de Síndrome de Fatiga Crónica del Hospital Vall d'Hebron; Jesús Castro y José Alegre de quienes me inicié en la investigación de pacientes con fatiga crónica. A Elena Galea del estudio

CREB, al grupo de investigadores de Patología Mitocondrial y Neuromuscular del Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR) con quienes colaboré en un proyecto sobre la enfermedad de Mc Ardle.

Por otro lado, no quiero dejar de agradecer a todos mis amigos y compañeros de trabajo en Chile; Rafael Zapata, Claudio Soto, Carlos Henríquez, Roberto Meneses con quienes hice las investigaciones en humanos en la Universidad Santo Tomás, sede Los Ángeles (Chile). A las autoridades de la sede Los Ángeles; María Jesús Poblete, Carolina Ríos y Sonia Sepúlveda, a Sebastián Rodríguez e Ivonne Espinoza de la Dirección de Investigación y Postgrado por confiar en mí en todos estos años y permitir que me realizara como profesional y académico.

También quiero agradecer a los alumnos de la carrera de kinesiología; Carla Sarqui, Danila Palma, Mario Inostroza, Cristian Valdebenito, Dalthon Robles y Loreto Gálvez quienes me ayudaron a tomar los datos y hacer las evaluaciones, sin su esfuerzo no lo hubiese conseguido.

Agradezco a todo mi hermosa familia por escucharme, entenderme, aconsejarme y seguro apoyarme a la distancia, de mi Chile querido, gracias hermana por venir a visitarme fue una gran inyección de energía, gracias papi y mami por cada reunión por Skype, las esperaba con entusiasmo para escucharlos, compartir el almuerzo dominical y de alguna forma pensar que nada había cambiado. Gracias hermano y Cheril por el hermoso regalo que nos han entregado. Lucianito ha sido un hermoso pegamento que ha unido más a esta pequeña, pero linda familia que tengo. Agradezco también a la familia postiza que he tenido aquí en España; a Ionel, Dragos, Lori y en especial a Delia, por cada uno de sus detalles, atenciones y por hacerme sentir cómodo a pesar de todas las barreras culturales e idiomáticas. Y como no agradecer a mi amor, me faltan palabras para escribir por todo lo que tengo que agradecerte, pero esencialmente tengo que darte gracias por ser tú la primera que le contaba todas mis ideas, por ser la persona con la quien compartía mis sueños, alegrías y frustraciones. Por ser la persona que supo entender y aceptar cada una de mis errores, por estar siempre conmigo, por renunciar a todo y decidir iniciar juntos una nueva vida al otro lado del charco. Gracias Sandrita.

Los he dejado para el final, pero eso no significa que fueron menos importante en toda esta aventura que duró 5 años. Agradezco a todos los amigos que me fui haciendo en el camino; a Juan Pablo, Antonio, Anita, Andrés, Isa, Alejandro, Irina, Chochi, Nicolás, Luicito, Manu, Edu, Kiril, Andreuw, Lorena. Gracias a todo mi grupo de amigos chilenos y chilenos postizos (Rubén, Tati, Deidy, Ceci, Marcelo, Naty, Alex, Danny Araujo, Toño,

## Agradecimientos

Daniela Rojo) con quienes inicialmente compartíamos un mismo sueño y ahora nos unen miles de historias, viajes y anécdotas. Sin ustedes nada hubiese sido igual.

¡Muchas gracias a todos!

**Efectos del ejercicio en condiciones de normopeso y obesidad:** Estudios en animales y humanos

---

*PRESENTACIÓN*

---

El autor de esta tesis es de profesión Kinesiólogo. (Esta profesión no existe en España, pero por contenidos y formación es muy parecida a la de fisioterapeuta). Antes de iniciar los estudios de doctorado en la UAB, ICC trabajó en su país natal Chile en instituciones públicas y privadas de educación y salud durante 7 años. Este período de trabajo le permitió conocer de cerca muchos de los problemas de salud que aquejan a la población y participar en campañas de salud con poblaciones de pacientes muy dispares y de edades diferentes sintiéndose más cómodo recomendando estrategias de prevención y promoción que haciendo terapia orientada a rehabilitación y/o tratamientos paliativos.

Gracias a este trabajo, pude comprobar de primera fuente la efectividad de estrategias preventivas basadas en disminuir los factores de riesgo, a través de la actividad física y a la alimentación. Lamentablemente, la población es cada vez más inactiva físicamente (Hillman et al 2014). Según los resultados de una Encuesta Nacional de consumo alimentario en Chile, el 95% de la población chilena no tiene una alimentación saludable (MINSAL, Encuesta Nacional de consumo Alimentario 2014). Además, cerca del 80% de la población no realiza actividad física regularmente (proporción mayor en mujeres) y los niños solo realizan la actividad asociada a la materia de educación física en la escuela, lo cual queda muy alejado del tiempo mínimo de 60 minutos diarios de actividad física recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para niños de 5-17 años (OMS, Recomendaciones mundiales de actividad física 2010). Si comparamos la encuesta nacional de salud del 2009-2010 con la del 2003, se observa un aumento de la prevalencia de la obesidad y la diabetes mellitus tipo II en ambos sexos para todos los grupos etarios (MINSAL, Encuesta Nacional de Salud 2010). Se hace necesario generar grandes cambios en las políticas de salud para instaurar la medicina preventiva y los estilos de vida saludables como primera y mejor forma de tener una población saludable. Soy consciente que en mi país se han propuesto estrategias para mejorar los indicadores de salud mencionados anteriormente; como el programa “*Elige vivir sano*” o la creación del Ministerio del deporte, pero también de las dificultades que conlleva su implementación. Una de las grandes dificultades es que carecemos de una gran cantidad de profesionales altamente especializados, capaces de proponer y dirigir programas orientados a la salud preventiva, así como de una masa crítica de investigadores que se encarguen de hacer investigación básica y clínica que justifique y sustente todos estos cambios.

Por otro lado, durante aquel período de trabajo apareció en el autor de esta tesis una curiosidad y un interés creciente para formarme cómo investigador y adquirir así las herramientas necesarias para diseñar, planificar, dirigir y ejecutar proyectos de investigación. Esta motivación creció acompañada del interés en el campo de la

investigación básica y de ahí el objetivo de realizar un Doctorado en Neurociencias. Posteriormente, ya en Barcelona y superada la primera etapa de adaptación a las nuevas líneas de trabajo con animales, el programa de tesis se centró en estudiar los posibles beneficios del ejercicio en diferentes modelos de roedores.

Durante los últimos 18 meses y en relación a un estudio desarrollado en la Universidad Santo Tomás (Chile), el autor ha participado en el diseño y realización de los estudios con estudiantes de primaria, secundaria y universidad que se incluyen en la segunda parte de esta tesis.

Globalmente, los estudios en animales y en humanos se centran en los efectos conductuales, fisiológicos y metabólicos del ejercicio en sujetos de peso normal y en sujetos con sobrepeso/obesidad, con el objetivo de contribuir en demostrar beneficios de estilos de vida saludables sobre la salud mental y física de quienes los practican.

Una vez acabados los estudios de doctorado, el autor espera poder continuar esta tarea en su país de origen, Chile, desarrollando proyectos de investigación prioritarios a las necesidades de la salud aumentando el capital humano especializado y si es posible la transferencia del conocimiento.

Estructura de las publicaciones y manuscritos no publicados

La tesis doctoral **“Efectos del ejercicio en condiciones de normopeso y obesidad: Estudios en animales y humanos”** se presenta bajo el formato de compendio de publicaciones. Se ha realizado en los periodos académicos 2012-2017 en el *Departament de Psiquiatria i Medicina Legal i l’ Institut de Neurociències, Facultat de Medicina de la UAB*, bajo la dirección de la Dra. Rosa María Escorihuela.

Las investigaciones y artículos que se desprendieron de los estudios hechos en animales se enmarcan dentro del proyecto:

- HRV y parámetros cognitivo-conductuales como marcadores de diferencias individuales en una intervención para mejorar la adherencia a estilos de vida saludables. Dirección General de Investigación (PSI2011-29807-C02-01)

Las investigaciones realizadas en humanos fueron realizadas en Chile durante el 2015 y fueron apoyadas por la Universidad Santo Tomás, Los Ángeles (Chile).

Durante el tiempo que duró la tesis, el doctorando Igor Cigarroa fue apoyado por la beca de Perfeccionamiento Académico de la Universidad Santo Tomás (Chile), además

desde el tercer año de estudios doctorales el doctorando fue apoyado por CONYCYT/BECA CHILE/PAI 72150035.

Las publicaciones incluidas en la tesis doctoral son:

- Parte 1A: Long-term moderate treadmill exercise promotes stress-coping strategies in males and female rats. Scientific Reports 2015; (5)16166: 1-11.
- Parte 1B: Treadmill intervention attenuates the cafeteria diet-induced impairment of stress-coping strategies in young adult female rats. Plos One 2016; 11(4): e0153687.

Además la tesis incluye:

- Parte 2A: Nutritional status, fitness, school performance, anxiety level and health habits in primary school in the province of Bio Bio (Chile): cross-sectional study; sometido a la Revista Chilena de Nutrición
- Parte 2B: Profile of nutritional status, physical fitness, academic performance, mental health and health habits of secondary schoolers and university students from province of Bio Bio (Chile): cross-sectional study (manuscrito no publicado).

Se ha incluido en el Anexo 1 los resultados de otro estudio no publicado.

- Anexo 1: Efectos cognitivos y metabólicos de dieta cafetería (CAF) con y sin la administración de procianididas de pepitas de uva (GSPE) en ratas jóvenes hembras.

Los resultados de los estudios en animales se han presentado a un congreso internacional y a dos congresos nacionales: II Encuentro de investigadores Chilenos en Europa APIECHE, Madrid, España. Noviembre 2015.

- III Encuentro de investigadores: América Latina en diálogo: Oportunidades para hoy y mañana. Red INCHE. Barcelona, España. Septiembre 2015.
- 9º FORUM FENS, Federación Europea de Neurociencias, Milán, Italia. Julio del 2014.
- IV Scientific Conference of Integrative Neurobiology, Barcelona, España. Abril del 2014.

---

*ÍNDICE*

---

<b>Resumen</b> .....	21-24
<b>Abstract</b> .....	25-28
<b>Abreviaturas</b> .....	29-30
<b>Introducción</b> .....	31-54
• <i>Ejercicio físico durante la infancia y la adolescencia: Parámetros y beneficios para la salud</i> .....	32-37
• <i>Modelos de ejercicio en roedores</i> .....	37-39
• <i>Ejercicio y ansiedad</i> .....	39-45
• <i>Modelos de obesidad en roedores</i> .....	45-46
• <i>¿Por qué comemos alimentos sabrosos “comfort food”?</i> .....	46-50
• <i>Obesidad, ansiedad y depresión</i> .....	51-54
<b>Objetivos e hipótesis</b> .....	55-58
<b>Primera parte, estudios en animales</b> .....	59-92
• <i>Metodología de la primera parte</i> .....	59-64
• <i>Resultados de la primera parte</i>	
<i>Parte 1A. Long-term moderate treadmill exercise promotes stress-coping strategies in males and female rats (2015, Scientific Reports)</i> .....	65-75
<i>Parte 1B. Treadmill intervention attenuates the impairment of cafeteria diet on stress-coping strategies in adolescent female rats. (2016, Plos One)</i> .....	76-92
<b>Segunda parte, estudios en humanos</b> .....	93-134
• <i>Metodología de la segunda parte</i> .....	93-97
• <i>Resultados de la segunda parte</i>	
<i>Parte 2A. Nutritional status, fitness, school performance, anxiety level and health habits in primary school in the province of Bio Bio (Chile): cross-sectional study</i> .....	98-115
<i>Parte 2B. Mental health scores, academic performance, and physical fitness in norm weight and overweight/obese students: A cross-sectional study</i> ...116-134	
<b>Discusión</b> .....	135-154
• <i>Resumen de resultados</i> .....	136-137
• <i>Ejercicio, peso corporal, metabolismo y consumo de alimentos</i> .....	138-140
• <i>Cambios en la actividad motora</i> .....	140-142

- *Ansiedad*.....142-144
- *Estrategias de afrontamiento a situaciones de estrés y rendimiento académico*.....144-148
- *Cambios en variables psicológicas*.....148-149
- *Aspectos terapéuticos del ejercicio físico*.....149-152
- *Dieta cafetería, ¿Puede revertir estados emocionales negativos?*.....153-154

**Conclusiones**.....**155-158**

**Referencias bibliográficas**.....**159-184**

**Anexos**

- *Anexo 1. Efectos cognitivos y metabólicos de dieta cafetería (CAF) con y sin la administración de procianididas de pepas de uva (GSPE) en ratas jóvenes hembras*.....185-196



---

*RESUMEN*

---

*El objetivo principal de la tesis fue evaluar, en estudios con animales y humanos, el impacto que tiene la práctica de ejercicio físico sobre variables conductuales, metabólicas y nutricionales, considerando diferencias de género en individuos de peso normal o con sobrepeso/obesidad. En los estudios con animales, se usaron ratas macho y hembra adultas de peso normal o con obesidad inducida por dieta (OID). Las ratas fueron entrenadas a una intensidad moderada (12 metros/minutos) y más alta (16 metros/minutos) durante 30 minutos, 4-5 días a la semana, tomando como referencia las recomendaciones de actividad física de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y adaptándolas al modelo animal. Se evaluaron variables biométricas, plasmáticas, neuroendocrinas, de sintomatología ansiosa y estrategias de afrontamiento. En los estudios con humanos, se analizó el rendimiento académico, la condición física, el estado nutricional y parámetros psicológicos relacionados con la salud mental en estudiantes de enseñanza básica, secundaria y universitaria. Los estudios en animales indicaron que las ratas hembras aprendieron mejor y más rápidamente que los machos la evitación activa de dos sentidos (SB), en términos de mayor número de respuestas de evitación, latencias de escape más cortas y menor número de ensayos hasta alcanzar el criterio de aprendizaje. En ambos sexos, el ejercicio mejoró la ejecución de la tarea, al aumentar el número total de evitaciones y disminuir el número de ensayos necesarios hasta alcanzar el criterio de aprendizaje. Las ratas obesas alimentadas con dieta cafetería (CAF) presentaban un aumento de masa y un conjunto de alteraciones metabólicas, como un aumento de los niveles plasmáticos de glucosa, insulina, triglicéridos y leptina, así como una disminución de la sensibilidad a la insulina, con respecto a las ratas de peso normal. El ejercicio disminuyó el porcentaje de masa grasa retroperitoneal y los niveles de leptina en las ratas con dieta CAF. A nivel conductual, las ratas obesas alimentadas con dieta CAF disminuyeron la distancia recorrida en el campo abierto (CA) y el número de evitaciones en la SB. El ejercicio aumentó la distancia recorrida en el CA. Específicamente, las ratas alimentadas con dieta CAF y que hicieron ejercicio a una intensidad más alta aumentaron el tiempo de permanencia en la zona central del CA y mejoraron parcialmente la adquisición de la evitación activa en dos sentidos. En los estudios en humanos, se observó una alta tasa de sobrepeso y obesidad en los estudiantes chilenos de todos los cursos evaluados. En los estudiantes de secundaria y universidad, los hombres tenían mayor porcentaje de masa muscular, menor porcentaje de masa grasa que las mujeres. Los hombres mostraron mejor condición física que las mujeres en todos los cursos evaluados. Las mujeres estudiantes de secundaria y universidad presentaron valores más bajos en la escala de autoestima, depresión y ansiedad que los hombres. En general, los estudiantes que tenían un mayor índice de masa corporal (IMC) presentaron peor condición física en comparación con*

*los estudiantes de peso normal. Globalmente, la condición física y los parámetros psicológicos de autoestima, depresión y ansiedad fueron menores en las mujeres y los estudiantes con sobrepeso/obesidad en comparación con los hombres y los estudiantes de peso normal. En conclusión, los estudios con animales indican que la dieta CAF puede perjudicar la salud y sus efectos negativos se pueden revertir parcialmente con ejercicio físico. Además, el ejercicio aeróbico de intensidad moderada mejora las estrategias de afrontamiento y podría considerarse como un apoyo terapéutico en el manejo del estrés y de las estrategias de afrontamiento.*



---

*ABSTRACT*

---

*The main aim of the thesis was to evaluate, in animals and humans studies, the impact of physical exercise on behavioral, metabolic and nutritional variables, considering gender differences in individuals with normal weight or overweight/obesity. In the animal studies, male and female adult rats with normal weight or with diet-induced obesity (DIO) were used. The rats were trained on a treadmill at moderate intensity (12 m / min) and high intensity (16 m / min) for 30 minutes, 4-5 days week, taking as reference the WHO Global recommendations on physical activity for health and adapting to the animal model. Biometric, plasma, neuroendocrine variables, anxiety-related symptoms and stress-coping strategies were evaluated. In the human studies, academic performance, physical fitness, nutritional status and psychological parameters related to mental health of primary, secondary and university students were assessed. Animal studies indicated that female learned better and faster than male for two-way activity avoidance learning (SB), in terms of higher number of avoidance responses, shorter escape latencies and fewer trials to reach performance criteria. In both sexes, exercise improved task performance by increasing the total number of avoidances and reduce the number of trials needed to reach the performance criteria. The rats that were fed with cafeteria diet (CAF) show an increase in body weight and a set of metabolic disorders such as retroperitoneal fat percentage, glucose, insulin, triglycerides, and leptin plasma levels as well as a decrease in insulin sensitivity regarding to normal weight rats. Exercise decreased the retroperitoneal fat mass percentage and the leptin levels in rats fed with CAF diet. A behavioral level, obese rats fed diet CAF decreased the distance on the open field test (OF) and the number of avoidances responses on SB. Exercise increased the distance covered in the OF. Specifically, the rats fed with CAF diet in combination with high intensity exercises increased the time spent on the OF central area and partially improved the coping strategies on the SB. In the human studies, a high rate of overweight and obesity was observed in Chilean students of all courses evaluated. Men of secondary and university students had higher lean mass average and lower fat mass average than women. Men showed better physical condition than women in all courses evaluated. Women of secondary and university had worse values of self-esteem, depression and anxiety scales than men. In general, students who had a higher body mass index (BMI) had worse physical condition compared with normal weight students. Overall, physical condition and psychological parameters of self-esteem, depression and anxiety were lower in women and overweight / obese students compared with men and normal weight students.*

*In conclusion, animal studies indicated that the CAF diet intake can impair health and its negative effects can be partially reversed with exercise. In addition, moderate-intensity*

Abstract

*aerobic exercise improves coping strategies and it could be considered as a therapeutic support in stress management and coping strategies.*



---

*ABREVIATURAS*

---

**6MWT:** Test de marcha de 6 minutos

**ACTH:** Hormona adenocorticotropa

**CAF:** Dieta de cafetería

**CON:** Grupo control

**CA:** Test de campo abierto

**CDC/NCHS:** Centro para prevención y control de enfermedades

**CDI-S:** Inventario breve de depresión infantil

**DAG:** Dieta alta en grasas

**EC:** Estímulo condicionado

**ENTs:** Enfermedades no transmisibles

**EF:** Ejercicio forzado

**EI:** Estímulo incondicionado

**EV:** Ejercicio voluntario

**INTA:** Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos de Chile.

**NEFAs:** Ácidos grasos libres no esterificados

**NP:** Normopeso

**OID:** Obesidad inducida por la dieta

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**PLP:** Potenciación a largo plazo

**PSU:** Prueba de selección universitaria

**KC:** Kilocaloría

**RSES:** Escala de auto-estima de Rosenberg

**RWART:** Masa grasa blanca retroperitoneal

**SB:** Shuttle Box

**SCAS:** Escala de ansiedad infantil de Spence

**SED:** Grupo sedentario

**SPO:** Sobrepeso/obesidad

**ST:** Dieta estándar

**STS:** Test sentarse y pararse

**TMH:** Grupo que realiza el ejercicio de intensidad más alta

**TML:** Grupo que realiza el ejercicio de intensidad moderada

**VO<sub>2max</sub>:** Consumo máximo de oxígeno

---

*INTRODUCCIÓN*

---

*Ejercicio físico durante la infancia y la adolescencia: Parámetros y beneficios para la salud*

Es conocido que la actividad física (AF) tiene beneficios sobre la salud, en general previene enfermedades cardiovasculares (Blair & Morris 2009), reduce el riesgo de accidentes cerebrovasculares (Wenker et al 2014), diabetes de tipo II (Balk et al 2015; Lambert et al 2014), hipertensión (Castro et al 2015), cáncer de colon (Schoenberg et al 2016), y depresión (Knapen et al 2015). Y parece que la AF practicada de manera regular y constante desde la niñez y durante la adolescencia (en forma de juego, deporte o actividad recreativa) puede prevenir enfermedades crónicas, como la diabetes tipo 2 (Fedewa et al 2014); el síndrome metabólico (Guinhouya et al 2009) o la obesidad (Thury et al 2015; Flynn et al 2006). Además, el ejercicio físico puede mejorar la condición física, reducir el peso y factores de riesgo cardio-metabólicos también en niños y adolescentes. En una revisión se evaluó el impacto del ejercicio aeróbico en niños y adolescentes (12-17 años) con sobrepeso y obesidad sobre marcadores metabólicos y factores de riesgo de enfermedades cardiorrespiratorias. Se revisaron 1264 artículos de las principales bases de datos científicas, dejando 24 estudios que cumplieran los criterios de inclusión metodológicos y de calidad. Los resultados indicaron que el ejercicio físico aeróbico se asociaba con una disminución del índice de masa corporal (IMC) (68,18% de los artículos que incluían esta variable), del porcentaje de grasa (68,42%), de la circunferencia de cintura (en el 100%), de la presión arterial sistólica (70%), de los niveles de insulina (en el 58,3%), del colesterol LDL (57,14%), del colesterol total (50%) y en la mejora de capacidad cardio-respiratoria (72,72%) (Vasconcellos et al 2014).

Diversos estudios han encontrado un efecto beneficioso de la actividad física sobre aspectos selectivos de las funciones cerebrales, como son las funciones ejecutivas y de control (Chaddock et al 2011; Van praag et al 2009; Hillman et al 2008; Cotman et al 2007). En estudios correlacionales se ha visto que en niños y adolescentes, un buen nivel de condición física (cardiovascular) se asocia con una mejor salud cerebral y rendimiento cognitivo evaluados mediante tiempo de reacción y exactitud de respuesta (Hillman et al 2006), variables electrofisiológicas (Hillman et al 2009; Voss et al 2011) o imágenes de resonancia (Chaddock et al 2010). Buck et al (2008) en un estudio realizado con 74 niños y niñas (de 7 a 12 años) encontraron que los niños con mejores puntajes de condición física tenían también mejores puntuaciones en todas las condiciones (palabras, colores y palabras) del test de STROOP. (La prueba de STROOP consiste en tres tareas: Lectura de palabras, Denominación de colores y una última tarea

de Interferencia. La comparación de las puntuaciones obtenidas en las tres tareas permite evaluar los efectos de la interferencia en el sujeto y su capacidad de control atencional). Otro estudio con 36 niños y 44 niñas de 8-12 años mostró que los escolares que tenían un nivel de actividad física alto, principalmente en actividades de moderada intensidad medida con un acelerómetro, tenían mejores resultados en pruebas de funciones ejecutivas como la inhibición en la prueba de STROOP, de memoria de trabajo en el test de memoria visual (VMS) y de planificación en el test de la Torre de Londres (ToL) Brevemente, en el test de memoria visual VMS el participante tiene que repetir una secuencia de movimientos dados por del examinador La prueba se inicia con dos secuencias y aumenta a siete secuencias que el participante tiene que copiar en orden inverso (hacia atrás), con dos intentos en cada secuencia. La prueba se interrumpe cuando el participante es incapaz de repetir dos secuencias seguidas. En la Torre de Londres el participante tiene que mover tres bolas de colores entre tres varillas de diferentes alturas con el fin de reproducir un patrón presentado por el evaluador. Esto implica que el participante cree una estrategia de planificación eficiente para resolver el problema. Un total de 12 problemas tienen que ser resueltos que varían en dificultad por el número de movimientos necesarios, empezando por dos y se eleva a cinco movimientos (van der Niet et al 2015). Al parecer, los efectos positivos del ejercicio físico sobre las funciones cognitivas podrían producirse a través de: 1) mecanismos neurales directos como el aumento de la neurogénesis y sinaptogénesis (Thomas et al 2012); 2) cambios en el metabolismo energético, como el incremento del flujo sanguíneo cerebral, el nivel de saturación de oxígeno o el aumento de angiogénesis en áreas cerebrales cruciales para la ejecución de tareas motoras como la corteza motora y pre-motora) (Gligoroska et al 2012; Kleim et al 2002); 3) el incremento de la liberación y concentración de neurotransmisores cerebrales como dopamina y la norepinefrina (McMorris et al 2008) o 4) la liberación de neurotrofinas como el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) o el factor de crecimiento insulínico tipo-1 (IGF-I) (Kempermann et al 2010; Schinder et al 2000).

Sin embargo, la magnitud de los efectos del ejercicio puede variar dependiendo del tipo, duración e intensidad del ejercicio realizado o de la función cognitiva analizada. En relación al tipo de ejercicio, un meta-análisis de Fedewa & Ahn (2011) que incluye estudios de los últimos 60 años en niños y jóvenes (3-18 años) concluyó: i) que el ejercicio aeróbico es el tipo de ejercicio que más beneficios reportaba en pruebas de memoria e inteligencia y en pruebas estandarizadas de matemáticas y lenguaje, y ii) que para aumentar los beneficios del ejercicio aeróbico, éste debía realizarse en grupos pequeños y al menos 3 veces por semana. Además, tanto la participación crónica en

un programa de ejercicios, como también una sola sesión de ejercicio, pueden repercutir positivamente sobre funciones ejecutivas de planificación, atención, inhibición y actualización de la memoria de trabajo (Hillman et al 2011; Best et al 2010).

Pesce et al (2009) estudiaron en 52 niños (11-12 años) el rendimiento en una tarea de memoria de recuerdo libre después de: a) un circuito de entrenamiento aeróbico, b) juegos de equipo o c) no realizar ejercicio (grupo control). La tarea consistió en memorizar 20 palabras y luego escribir tantas palabras como fuese posible después de 100 segundos y después de 720 segundos. La duración del ejercicio (40 minutos) y la intensidad (140 latidos por minuto) fueron iguales en las condiciones a) y b). Después de los 100 segundos, el grupo de juegos de equipo recordó más palabras que el grupo control. Después de los 720 segundos los niños incluidos en las dos condiciones de ejercicio (entrenamiento y juegos) recordaron un mayor número de palabras que el grupo de control. Estos resultados sugieren que un único período de ejercicio puede potenciar los procesos de memoria en los niños y que tal vez se obtengan mayores efectos haciendo ejercicio colectivo que incorporen la activación cognitiva a través de diferentes interacciones sociales.

Con respecto a la intensidad del ejercicio, Davis et al. (2011) estudiaron los efectos de una intervención de 16 semanas en 171 niños de 7 a 11 años de edad con sobrepeso, a los cuales asignaron aleatoriamente: a) una sesión de ejercicio de 20 minutos 5 días a la semana (dosis de ejercicio baja); b) una sesión de 40 minutos 5 días a la semana (dosis de ejercicio alta), o c) condición de control sin ejercicio. Al finalizar la intervención evaluaron el rendimiento académico con un test estandarizado y administraron el test “*Cognitive Assessment System*” a los participantes al tiempo que se medía la actividad cerebral con resonancia magnética. Los niños que recibieron la dosis alta de ejercicio tuvieron un mejor puntaje en el test de funciones ejecutivas, mejores logros académicos en las pruebas de matemáticas y un incremento significativo en la actividad bilateral del córtex prefrontal en relación al grupo control.

En concordancia, Winter et al (2007) demostraron que un ejercicio de alta intensidad (2 carreras cortas de 3 minutos con velocidad incremental y nivel de lactato en sangre > 10 mmol) realizado por jóvenes estudiantes (22,2±1,7 años) produjo beneficios inmediatos en la velocidad de aprendizaje de vocabulario nuevo y aumentó el nivel de BDNF periférico en comparación con el grupo de baja intensidad y el grupo sedentario.

En esta misma dirección, se ha detectado una asociación positiva entre la participación en programas de ejercicio físico aeróbico y mejores resultados escolares. Trudeau Shepard (2008) indicaron que en niños y adolescentes (5-15 años), el incremento de la

cantidad de tiempo dedicado a la actividad física en la escuela no está acompañado de un empeoramiento en el rendimiento escolar, de manera que los colegios que tenían en su currículo más énfasis en la educación física podían tener mayores ganancias en la nota media final. Además, detectó una asociación positiva entre programas de ejercicio (principalmente aeróbicos de largo plazo y de moderada intensidad) y el rendimiento escolar medido en pruebas estandarizadas de matemáticas y lenguaje y el rendimiento en pruebas de memoria, concentración, atención, asistencia a clases y autoestima. Åberg et al (2009) evaluaron en una muestra muy amplia de adolescentes suecos (n=1.221.727) la condición física con ciclo-ergómetro, la fuerza muscular en miembros superiores e inferiores y el rendimiento en pruebas de matemáticas, lenguaje, lógica y percepción viso/espacial) a los 15 y 18 años, y luego entre los 28 y 54 años. Resultó que aquellos que tenían mayor resistencia cardiovascular (no muscular) en la adolescencia tuvieron mayores puntuaciones en los test de inteligencia global, comprensión verbal, pensamiento lógico y matemáticas. Tal vez, lo más interesante fue descubrir que los jóvenes con mejor resistencia aeróbica a los 18 años, tenían un nivel socioeconómico más alto y mayores logros académicos (mejores empleos y mayor probabilidad de obtener títulos universitarios) a los 54 años. Independiente de que en los años posteriores hubieran seguido o no haciendo ejercicio, aquellos que habían practicado ejercicio físico en su juventud demostraban tener mejores habilidades mentales durante el envejecimiento. Sin embargo, no todos los estudios han observado el mismo grado de asociación y los mismos efectos beneficiosos del ejercicio físico en variables cognitivas y académicas en niños y adolescentes. Lee et al (2013) en una amplia revisión que incluía 1233 potenciales artículos, seleccionó 8 ensayos clínicos controlados y aleatorizados que cumplían con los criterios de inclusión. Todos los estudios mostraron que la actividad física tuvo un impacto positivo general sobre la cognición de los niños. Sin embargo, se encontró que esta relación era mínima en muchos estudios y en algunas variables, no existía una mejora significativa. A modo de ejemplo, un grupo de niños de 2 grado (5-7 años), que fueron sometidos a 2 horas semanales adicionales de ejercicio físico aeróbico de mediana intensidad (medido con acelerómetro) no mejoraron significativamente el puntaje del test de evaluación cognitiva "*Cognitive assessment system*", aun cuando mejoraron en las pruebas de memoria espacial y de trabajo del "*Cambridge Neuropsychological Test Battery* (CANTAB), test neuropsicológico de evaluación muy sensible a cambios cognitivos) en comparación con el grupo control que realizó las actividades físicas cotidianas (Fisher et al 2011).

En conjunto, los estudios previos parecen indicar que para obtener efectos beneficios del ejercicio, los niños y adolescentes deberían acumular como mínimo 60 minutos de ejercicio físico al día, de los cuales la mayoría deberían ser de moderada intensidad, y la mayor parte del ejercicio físico realizado debería ser aeróbico (Janssen et al 2007; 2010). En general, parece probable que un mayor volumen o intensidad de actividad física puede reportar más beneficios, aunque las investigaciones a este respecto son todavía limitadas y faltan muchos datos para confirmarlo.

Por otro lado, los estudios provenientes de líneas de investigación básica, realizados con animales jóvenes y adolescentes indican que el ejercicio físico podría prevenir la obesidad (EL Elj et al 2010), reducir el peso corporal y el apetito (Wang et al 2008), normalizar la sensibilidad a la insulina (Goularte et al 2012) y aminorar disfunciones vasculares y metabólicas, como la tolerancia a la glucosa o la inflamación del tejido adiposo en ratas obesas (Hung et al 2015; Xu et al 2011). Wang et al (2008) encontró que una intervención en cinta rodante (20 minutos diarios por 5 días a la semana a 20 m/min) durante 8 semanas disminuyó la cantidad de comida consumida y el peso corporal y normalizó parcialmente el perfil lipídico (triglicéridos, colesterol y glucosa) en ratas obesas.

Además, un número creciente de estudios en animales corroboran la influencia positiva del ejercicio físico sobre las funciones cognitivas, estimulando el desarrollo cognitivo en la infancia, mejorando la salud mental, promoviendo resistencia contra enfermedades neurodegenerativas y reduciendo el deterioro cognitivo asociado a la vejez (Gómez-Pinilla & Hillman 2013). De entre los principales cambios inducidos por el ejercicio en estudios en roedores destacan el incremento de la plasticidad neural medida como neurogénesis en el hipocampo, densidad de espinas neuronales, niveles de neurotrofinas o mejora de la memoria espacial (ver revisión) (Gómez-Pinilla & Hillman 2013; van Praag et al 2008; Ang & Gomez-Pinilla 2007).

En particular y en relación al modelo animal de ejercicio basado en la cinta rodante que es el que hemos utilizado en la presente tesis, se ha observado que el ejercicio mejora la memoria y el aprendizaje espacial hipocampo-dependiente (Ang et al 2006; Huang et al 2006) y la memoria aversiva amígdala-dependiente (Chen et al 2008; Liu et al 2008) en animales entrenados a intensidades moderadas de 12-20m/min en sesiones de al menos 30 minutos diarios y durante 4-12 semanas. En otro estudio, ratones entrenados en la cinta rodante (60 minutos/sesión, 12 m/min, 5 días/semana, 4 semanas) estaban mejor orientados que en grupo control no entrenado (i.e. pasaron más tiempo en la zona de la plataforma durante la prueba sin plataforma) en el laberinto acuático de Morris.

Además, los animales corredores también mejoraron la latencia de retención a las 24 horas en la prueba de memoria aversiva evaluada con el test de evitación pasiva (Liu et al 2009). O'Callaghan et al (2009) observaron que ratas adultas (13-15 meses de edad) entrenadas en la cinta rodante (dos sesiones diarias de 30 minutos, 16 m/min) durante 8 meses lograron prevenir alteraciones asociadas con la edad en variables de plasticidad neuronal como la potenciación a largo plazo y la expresión de factores de crecimiento (NGF y BDNF). Además, en el mismo estudio se observó también en el grupo con ejercicio una disminución de las latencias de escapada en el *Morris water maze*, lo que indicara un mejor aprendizaje espacial en comparación con el grupo sedentario que no disminuyó las latencias de escapada a lo largo de la prueba. Sin embargo, hay datos contradictorios en la literatura con respecto a los efectos del ejercicio sobre variables cognitivas en ratas (Barnes et al 1991; O'Callaghan et al 2007). Por ejemplo, no se encontraron diferencias en las latencias de escapada y el tiempo de permanencia en la zona de la plataforma del *Morris water maze* entre ratas de 4 meses de edad entrenadas en cinta rodante (16 m/min 60 minutos diarios durante 7 días) y ratas control sin ejercicio (O'Callaghan et al 2007). La variedad de protocolos de ejercicio utilizados en los diferentes estudios, las diferentes cepas de ratas, las disparidades en las condiciones de alojamiento pueden dar cuenta en parte de la variabilidad en los resultados publicados. También hay que considerar que la magnitud de los efectos inducidos por el ejercicio en el cerebro pueden depender de la edad de inicio del ejercicio (O'Callaghan et al 2009; Kim et al 2004). Se ha encontrado una mayor proliferación celular en el giro dentado de ratas corredoras de 8 meses de edad en comparación con ratas corredoras ancianas (62 meses) (Kim et al 2004).

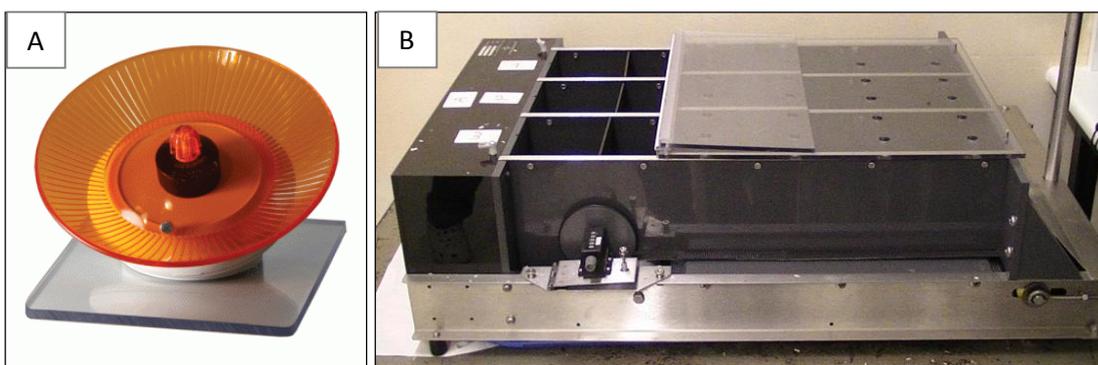
### *Modelos de ejercicio en roedores*

En roedores, se usan mayoritariamente dos paradigmas de ejercicio que permiten medir cuantitativamente la cantidad de ejercicio físico realizado por el animal: uno es el ejercicio voluntario en la rueda de actividad (EV; Figura 1A) (Sherwin et al 1998) y el otro es el ejercicio forzado (EF) en la cinta rodante (treadmill; Figura 1B) (Leasure & Jones 2008). Con respecto al primero, la actividad se monitoriza por un sistema que captan y procesa la información que emite la rueda (número de giros por minuto, tiempo, velocidad, etc.). Normalmente, la rueda se coloca en la jaula de manera que el animal tenga acceso libre a ella y pueda realizar períodos de actividad voluntaria en términos de número, intensidad, duración y frecuencia. No se obliga y no es necesario motivar a los animales a correr, aun cuando se requiere que estén estabulados individualmente

para poder registrar la actividad que realiza cada uno. A este respecto, es necesario tener en cuenta los efectos adversos del aislamiento social, como el aumento de los niveles de ansiedad (Hermes et al 2011), de la respuesta de estrés, de conductas relacionadas con la depresión (Fone & Porkess 2008), disminución de la salud cardiovascular (Grippe et al 2007), e incluso la disminución de los efectos positivos del ejercicio a nivel cerebral (Stranahan et al 2006). El modelo de EV no permite determinar 'a priori' la cantidad de ejercicio que va a hacer cada animal, lo que genera muestras heterogéneas de "animales corredores" (García-Capdevila et al. 2009). En algunos estudios, con el objetivo de contrarrestar la alta variabilidad de ejercicio que hay entre los animales de un mismo grupo experimental, se ha utilizado la estrategia de dividir 'a posteriori' la muestra en grupos de acuerdo a la cantidad de actividad física realizada (por ejemplo, poco corredores, medianamente corredores y muy corredores) (Díaz et al. 2013; García-Capdevila et al. 2009; Salam et al 2009; Burghardt et al 2006).

Según algunos investigadores, las conclusiones que se desprenden de los estudios de EV pueden orientar sobre lo qué pasa en el humano que elige libremente cuando y cuanto correr, probablemente porque le gusta y está motivado a hacerlo. Sin embargo, esta situación no es fácilmente trasladable a quienes no están motivados o no les gusta hacer ejercicio, o a personas con condiciones limitadas de movilidad, como lo pacientes con lesiones medulares, patologías cardio-respiratorias crónicas u obesidad (Ang et al 2007).

En el modelo EF, los animales se colocan en una cinta rodante durante un período de tiempo al día que suele ser fijo (normalmente entre 30-60 minutos, 2-5 veces por semana). Además de controlar el tiempo que dura la sesión, el experimentador también controla la intensidad a la que rueda la cinta y el número de sesiones que realizan los animales. Normalmente los modelos de tapices rodantes permiten además inclinar la cinta, con lo cual se puede aumentar adicionalmente la intensidad/dificultad del ejercicio. De esta forma, todos los animales pueden hacer las mismas dosis de ejercicio (Lalanza et al 2012). Algunos autores han sugerido que el EF modela la actitud de un gran número de personas que espontáneamente rehúsan practicar ejercicio (Leasure & Jones 2008). En la presente tesis hemos utilizado el modelo EF de tapiz rodante, porque permite programar la misma dosis de ejercicio para todos los animales sin que estén estabulados individualmente. Tomando como referencia los resultados encontrados en la literatura y teniendo en cuenta las dosis de ejercicio actualmente recomendadas en humanos, hemos optado por utilizar un protocolo de ejercicio aeróbico de intensidades moderadas (12-16 m/min) durante 30 minutos diarios con una frecuencia de 4-5 sesiones semanales.



**Figura 1. A) Rueda de actividad de ratones (EV), B) Cinta rodante de ratas (EF).** Ambos aparatos se usan para administrar ejercicio a roedores. Fuente: A) Med Associates INC., B) Jaume Ferrer.

### *Ejercicio y ansiedad*

Estudios recientes en humanos han mostrado que la práctica del ejercicio físico (principalmente aeróbico) tiene efectos beneficiosos en el tratamiento de trastornos psiquiátricos y psicológicos como la esquizofrenia (Vera-García et al 2015), la depresión mayor (Cooney et al 2011), el trastorno bipolar (Melo et al 2016), o el trastorno de estrés post-traumático (Rosenbaum et al 2015). Más en concreto, se ha visto en los últimos años que el ejercicio puede ayudar en la prevención y el tratamiento de trastornos de ansiedad (Stonerock et al 2015; Wegner et al 2014; Asmundson et al 2013; Pelusso & Andrade 2005; Martinsen 2000, Bhui & Fitcher 2000), aun cuando la intervención farmacológica y/o la psicoterapia continúan siendo la 1º elección terapéutica (Ekeland et al 2004). Wegner et al (2014) en un reciente meta-análisis mostró que el tamaño del efecto ansiolítico del ejercicio era pequeño ( $ES=0,34$ ). Indicando que cuando sólo se consideraban sólo los estudios clínicos controlados el tamaño del efecto ansiolítico del ejercicio aumentaba a moderado. Los autores concluyen que existe una considerable heterogeneidad en los diseños de los distintos estudios, las variables analizadas y los métodos de medición, por lo que se precisan una mayor cantidad de estudios clínicos controlados para poder obtener conclusiones más definitivas.

A nivel psicológico, se han propuesto diferentes hipótesis para explicar los efectos beneficiosos de la actividad física sobre la ansiedad: 1) la distracción, 2) la auto-eficacia, y 3) la interacción social. La hipótesis de la distracción sugiere que la desviación de los estímulos desfavorables conduce a un mejor estado de ánimo durante y después del ejercicio. La hipótesis de auto-eficacia propone que, ya que el ejercicio físico puede ser

visto como una actividad desafiante, la capacidad de involucrarse en ella de una manera periódica podría conducir a un mejor estado de ánimo y confianza en sí mismo. La hipótesis de la interacción social, propone que las relaciones sociales comúnmente inherentes a la actividad física, así como el apoyo mutuo que se produce entre las personas que participan en la actividad, favorecerían los efectos positivos del ejercicio en el estado de ánimo y el control de la sintomatología ansiosa (Pelusso Andrade 2005, Morgan et al 1985).

A nivel fisiológico, se ha propuesto que el ejercicio podría actuar como un agente que eleva el estado de ánimo influyendo así en los mecanismos neuronales relacionados con la ansiedad y la depresión (Ströhle et al 2009). Las hipótesis estudiadas se basan en las monoaminas y las endorfinas. La primera se apoya en el hecho de que la actividad física prolongada incrementa los niveles de monoaminas (noradrenalina y serotonina) (Dunn & Dishman 1991). De hecho, la causa inmediata de la depresión podría ser una disfunción en el sistema de la serotonina (5-HT) (Kari et al 1978). El papel de la 5-HT en los trastornos de ansiedad es controvertido (Charney et al 2002) y hasta ahora, no se ha otorgado a la 5HT un papel principal en la fisiopatología de los trastornos de ansiedad; si embargo para su tratamiento se utilizan antidepresivos que promueven la re-captación de serotonina y/o noradrenalina mediante el aumento de su disponibilidad en la hendidura sináptica (Blier et al 1994). La segunda hipótesis, se basa en la observación de que la actividad física provoca la liberación de opiáceos endógenos, básicamente beta-endorfinas. Los efectos inhibitorios de estas sustancias en el sistema nervioso central son los responsables de la sensación de calma y el mejor estado de ánimo experimentado después del ejercicio (Allen et al 2000), pero esto aún no ha sido confirmado. La hipótesis se sustenta en la posible relación entre el aumento de la irritabilidad, inquietud, nerviosismo y los sentimientos de frustración reportados por individuos físicamente activos cuando son retirados del ejercicio y se encuentran en un estado de abstinencia de endorfinas (Morris et al 1990).

Diversas revisiones y meta-análisis (Herrings et al 2010, Long & van Stavel 1995 y Petruzzello et al 1991) han permitido establecer factores determinantes de los efectos ansiolíticos del ejercicio físico, entre los cuales están la edad, el género y el estado de salud de los participantes, así como también los instrumentos de medición utilizados.

Los cuestionarios más utilizados para evaluar ansiedad son el Inventario de Ansiedad Estado Rasgo (STAI) (Spielberger et al 1994), el Perfil de Estados de Ánimo (POMS) (McNair et al 1992), la Escala de Ansiedad de prueba (TAS) (Sarason et al 1978), el SCL-90-R (Derogatis et al 1983), o el Inventario de Ansiedad de Beck (BAI) (Beck 1993). De entre todos ellos, el STAI es el auto-informe más ampliamente utilizado en adultos porque mide fácilmente el componente rasgo y el componente estado. Para niños y

adolescentes el más usado es el cuestionario de ansiedad infantil de Spence (Godoy et al 2011).

Con el objetivo de saber con qué tipo instrumentos se detectaban mayores efectos ansiolíticos del ejercicio, Petruzzello et al (1991) estableció tres categorías de instrumentos: los cuestionarios que evaluaban ansiedad-estado, los que evaluaban ansiedad rasgo y los que evaluaban variables psicofisiológicas de ansiedad. Mientras que los tamaños del efecto para las tres categorías indicaron que el ejercicio se asoció con una reducción de la ansiedad, los tamaños del efecto variaron, de manera que las variables psicofisiológicas tuvieron efectos mayores (0,56) que los cuestionarios de ansiedad-estado (0,24), y ansiedad-rasgo (0,34).

En relación a la edad, Schlicht et al (1994) analizaron 20 artículos encontrando que el ejercicio tenía un tamaño de efecto pequeño (0,30) y moderado por la edad, de manera que las personas entre 30-50 años obtenían mayores beneficios ansiolíticos del ejercicio que las personas de edades entre 10-30 años. Sin embargo, Wegner et al (2014) no identificaron ningún patrón edad-dependiente en relación a los efectos ansiolíticos del ejercicio. Biddle et al (2011), en una revisión en jóvenes de entre 11 y 20 años detectó una disminución de la sintomatología ansiosa en los grupos de jóvenes que hacían ejercicio aeróbico en comparación con los que no hacían ejercicio (Petruzzello et al 1991, Calfas & Taylor 1994; Larun et al 2006; Wipfli et al 2008). Petruzzello et al (1991), Larun et al 2006 y Wipfli et al (2008) detectaron un tamaño de efecto de pequeño a moderado de los programas de ejercicio sobre la ansiedad (0,47-0,48) y Calfas et al (1994) detectaron un tamaño de efecto pequeño (0,15). La conclusión es que las intervenciones de ejercicio para los jóvenes tienen hasta la fecha un efecto beneficioso pequeño para la reducción de la ansiedad, si bien la evidencia es limitada y necesita ser más desarrollada.

En relación al género, aun cuando en hombres y mujeres se observa que el ejercicio puede disminuir la sintomatología ansiosa, parece que los efectos son superiores en los hombres en comparación con las mujeres (Long & van Stavel 1995). Wipfli et al (2008) encontraron un tamaño de efecto más grande en hombres que en mujeres (0,53 vs 0,31).

Parece ser que la práctica de ejercicio físico es más beneficiosa en pacientes que ya tienen un diagnóstico de trastorno de ansiedad comparado con muestras de participantes no clínicos. Wipfli et al (2008) detectaron un efecto mayor del ejercicio aeróbico en muestras clínicas en comparación con muestras no-clínicas (0,52 vs 0,40). También se han observado efectos del ejercicio físico aeróbico en la prevención de sintomatología depresiva y ansiosa en la población no diagnosticada y mentalmente

sana. En un meta-análisis sobre los efectos preventivos y de tratamiento del ejercicio en niños y adolescentes (11-19 años) que incluyó 16 estudios en su análisis final (después de revisar 1191) Larun et al (2006) encontraron 6 estudios (Berger et al 1988; Carl 1984; Hilyer & Wilson 1982; Jacobs et al 1984; Roth et al 1987; Smith et al 1983) que obtuvieron efectos ansiolíticos de programas de ejercicio aeróbico de intensidad moderada o alta, frecuencia de al menos 3 sesiones semanales durante un período de 6-20 semanas en comparación con los grupos control sin intervención. Por el contrario, sólo un estudio de baja calidad metodológica no encontró diferencias significativas en el puntaje final de la escala de ansiedad (*The Hospital Anxiety and Depression Inventory* (HADS)) entre los participantes que hicieron ejercicio (1 hora de ejercicio de resistencia muscular al 70% de la resistencia máxima, 3 veces por semana durante 6 semanas) y los que no lo hicieron (n=36; 10-17 años) (Lau et al 2004).

Pese a que se han observado efectos similares del ejercicio físico en comparación a otras formas de terapia para reducir la sintomatología ansiosa, el ejercicio hasta ahora ha sido considerado como una terapia alternativa que es menos costosa y con menos efectos co-laterales comparado con la terapia farmacológica. Existen pocos estudios que hayan comparado los efectos ansiolíticos del ejercicio con las terapias de 1º elección (farmacoterapia y terapia cognitivo/conductual). El único meta-análisis de estudios clínicos aleatorizados (27 artículos, n= 1,924 total de participantes) encontró que el ejercicio es más efectivo en la reducción de la ansiedad que los tratamientos de musicoterapia, educación en el manejo del estrés, relajación, meditación o stretching. Algunos estudios que han comparado los efectos del ejercicio físico con los obtenidos mediante tratamiento farmacológico (Wedekind et al 2010) o terapia cognitivo conductual (Hovland et al 2012) no han mostrado mayor efectividad en la reducción de la ansiedad a favor del ejercicio. En un ensayo clínico controlado (n=75, 18 -55 años) con pacientes en tratamiento por trastornos de pánico (evaluado con DSM-IV y ICD-10) mostró que los grupos que recibieron paroxetina disminuyeron significativamente más la sintomatología ansiosa (medida con la *Panic and Agoraphobia Scale* (P&A) y la *Clinical Global Impression Scale* (CGI) en comparación con los grupos que hicieron ejercicio aeróbico (*jogging/footing* 45 minutos 3 veces a la semana durante 10 semanas) o técnicas de relajación (Wedekind et al 2010). En otro estudio se comparó los efectos ansiolíticos a corto y largo plazo de ejercicio aeróbico (60 minutos de trote al aire libre 3 veces por semana) a una intensidad moderada-alta (60-80% FC máxima) versus terapia cognitivo/conductual (ambos durante 12 semanas) en pacientes con trastornos de pánico (18-50 años). Los resultados mostraron un mayor efecto ansiolítico de la terapia cognitivo/conductual en comparación con el grupo que hizo ejercicio. Estos resultados se corroboraron en la evaluación de seguimiento un año después (Hovland et al 2012).

Hay pocos estudios interesados en conocer los parámetros de ejercicio que tienen mayores efectos ansiolíticos. Parece que los efectos ansiolíticos del ejercicio varían según la intensidad, el tiempo de la sesión, la frecuencia semanal, o la duración del programa. Petruzzello et al (1991) encontraron que los mayores efectos en la reducción de la ansiedad-estado fueron observados cuando los programas de ejercicio duraban al menos 16 semanas (tamaño del efecto=0,50). Wipfli et al (2008) encontraron que el tamaño de efecto más grande en la reducción de la ansiedad (-0,59) se encontraba en los programas que tenían una duración de 4 a 9 semanas. Con respecto a la frecuencia, los mayores efectos ansiolíticos se han visto en programas de ejercicio que tienen 3-5 sesiones por semana (Herring et al 2010; Petruzzello et al 1991). En relación a la duración de la sesión, las sesiones de entre 20-40 minutos tuvieron los mejores efectos en la reducción de la de la ansiedad-rasgo y estado (Petruzzello et al 1991).

Con respecto a la intensidad, los resultados son dispersos y de momento no permiten extraer conclusiones consistentes. Se han evaluado diversos programas de ejercicio aeróbico (*jogging, footing, running* de distinta intensidad) y se han encontrado efectos ansiolíticos de programas de ejercicios de alta, moderada y baja intensidad (Asmundson et al 2013). Broman-Fulks et al (2004) evaluaron a 54 estudiantes universitarios con altos puntajes de sensibilidad a la ansiedad a través del *Anxiety Sensitivity Index (ASI)*. La sensibilidad a la ansiedad se entiende como un miedo duradero a determinadas sensaciones provocado por la creencia de que estas sensaciones pueden tener consecuencias físicas, psicológicas, sociales o nocivas. Las personas que tienen una alta sensibilidad a la ansiedad tienen una tendencia a malinterpretar y exagerar sensaciones fisiológicas relacionadas con la ansiedad. Es conocido como precursor de ataques de pánico y desórdenes de ansiedad (Ehlers et al 1995). Broman-Fulks et al (2004) encontraron que los estudiantes que trotaban en una cinta ergométrica (20 minutos, 3 veces por semana por 2 semanas) a alta intensidad (60-90% de la FC) y los estudiantes que hicieron ejercicio de baja intensidad (40% a 59% de la FC) lograron disminuir los puntajes de la ASI, tanto inmediatamente post intervención como en el seguimiento una semana después. Sin embargo, el ejercicio de alta intensidad produjo reducciones más rápidas en las puntuaciones ASI. Además, sólo el grupo de ejercicio de alta intensidad redujo el miedo de las sensaciones fisiológicas relacionadas con la ansiedad. Después de la intervención, el grupo de ejercicio de alta intensidad mostró significativamente menos miedo a las sensaciones corporales relacionadas con la ansiedad en comparación con el grupo de ejercicio de baja intensidad, manteniéndose hasta el seguimiento estas diferencias entre los grupos.

Los estudios en animales han descrito efectos ansiolíticos (Fulk et al 2004) o efectos ansiogénicos (Dishman et al 2006) del ejercicio dependiendo de la tarea conductual evaluada, la variable estudiada o el tipo de ejercicio seleccionado (Leasure & Jones 2008; Burghardt et al 2004). Algunas razones que podrían explicar estas inconsistencias son que los animales que realizan ejercicio y los que no lo hacen están expuestos a otros estímulos externos, como la manipulación que conlleva el colocar al animal en la cinta rodante. Esta manipulación puede modificar la actividad, exploración y conducta ansiosa del animal, y algunos estudios han incluido un grupo control sometido a la misma manipulación que el grupo experimental (Lalanza et al 2012; Spangenberg et al 2009; O'Callaghan et al 2009). Por otro lado, la práctica de ejercicio físico puede causar inicialmente stress hasta que se producen las adaptaciones fisiológicas y psicológicas necesarias, por lo que algunos estudios que han utilizado protocolos de ejercicio de corta duración (menor a 10 semanas) no han observado efectos ansiolíticos del ejercicio. Este efecto puede desaparecer progresivamente con el tiempo, por lo que un protocolo de ejercicio de larga duración pudiera ser más apropiado para detectar los efectos beneficiosos del ejercicio sobre la ansiedad (Hopkins & Bucci 2010; Leasure & Jones 2008). Leasure and Jones (2008) encontraron un incremento de las conductas ansiosas evaluadas en el test de campo abierto en ratas sometidas a ejercicio forzado durante 8 semanas de duración. Burghardt et al (2004) obtuvieron que ratas entrenadas en la cinta rodante (20 m/min, 45 minutos diarios, 5 veces a la semana durante 8 semanas) no mostraron cambios en la conducta ansiosa medida en el laberinto elevado en cruz, en el campo abierto, en la interacción social y en el miedo condicionado en comparación con el grupo control sedentario. Por el contrario, Salim S et al (2010) obtuvieron que un protocolo de entrenamiento más corto y de una intensidad inferior al utilizado en el estudio anterior (15 m/min, 60 minutos diarios, durante 4 semanas) prevenía el incremento de marcadores de estrés oxidativo y disminuía la conducta ansiosa en el campo abierto y en el aparato de luz/oscuridad (Salim et al 2010). Fulk et al (2004) utilizando un protocolo de similares características (20m/min, 45 minutos diarios, 5 días a la semana durante 10 semanas) también observó una disminución en la conducta ansiosa en el campo abierto y el laberinto elevado en cruz.

En relación a los parámetros óptimos del ejercicio físico (intensidad, duración y frecuencia), un estudio evaluó los efectos de diferentes programas de ejercicio (1, 3 o 7 sesiones por semana) a los 3 y a los 15 meses de edad en el laberinto elevado en cruz. La velocidad del ejercicio en la cinta rodante fue ajustada periódicamente para que se mantuviera en una intensidad mínima de 10 m/min y máxima de 20m/min en los 3 meses de edad y mínima de 7m/min y máxima de 12m/min en las ratas mayores de 15 meses. Tal y como era esperable, se observó que la conducta ansiosa aumentaba con la edad.

Todos los protocolos de ejercicio disminuyeron la conducta ansiosa medida como el tiempo de permanencia en los brazos abiertos del laberinto elevado en cruz en las ratas de 3 meses. Pero, lo interesante de este estudio fue que sólo el entrenamiento de 1 vez/semana revirtió el efecto ansiogénico de la edad a los 15 meses (Costa et al 2012).

### *Modelos de obesidad en roedores*

Es conocido el aumento alarmante de sobrepeso y obesidad en la población de muchos países, una epidemia que afecta también a jóvenes y adultos (Ogden et al 2014). En relación con ello, se ha desarrollado un amplio abanico de modelos animales disponibles para el estudio de la obesidad, sus efectos negativos y posibles estrategias terapéuticas (Hariri & Thibaul 2010; Buettner et al 2007). Todos los modelos estimulan la ganancia de peso y de depósitos de masa grasa. Algunos se centran en reproducir anomalías genéticas que puedan mimetizar algunos de los mecanismos que controlan la homeostasis de esta enfermedad. Un ejemplo de estos modelos son las ratas obesas Zucker $fa/fa$ . Estas ratas son homocigóticas para el alelo  $fa$  y se sabe que la mutación de este alelo genera cambios en el receptor de la leptina, lo cual induce obesidad a partir de la tercera y quinta semanas de vida (de Artiñano & Castro 2009). Los ratones Lep<sup>ob/ob</sup> por ejemplo, provienen de una mutación espontánea que genera deficiencia de la leptina y son obesos a las 4 semanas de vida. Con una dieta a base de pienso pueden pesar más de 100 gr (más de 4 veces que los animales del grupo control no leptina deficientes (Kennedy et al 2010; Zhang et al 1994). Otros modelos se basan en inducir obesidad a través del sobreconsumo de alimentos altos en contenidos de grasa y/o azúcar. Entre ellos encontramos, modelos basados en la administración de pienso con porcentajes de grasa más altos (entre un 20% a un 45%) que los del pienso estándar (entre un 3% a un 12%). Por ejemplo, Sampey et al (2011) comparó ratas Wistar macho alimentadas con pienso con un 45% de grasa derivada de la manteca del cerdo (Research diets D06011802) o alimentadas con pienso estándar con un 12% de grasa (grupo control; Harlan Teklad SC7001). Observaron que las ratas alimentadas con la dieta con un alto porcentaje de grasa aumentaron un 40% más de peso que el grupo control a partir de la 6ª semana y consumieron 4 veces más grasa (Sampey et al 2011). Otros modelos se basan en alimentar a los animales con una dieta estándar y agua con altas cantidades de fructosa. Lozano et al (2016) administraron a distintos grupos de ratas: i) una dieta estándar y agua con fructosa (25% de fructosa), ii) una dieta estándar con 3,1% de grasa y iii) una dieta alta en grasa (21,4%). Después de 4 semanas los animales alimentados con dieta alta en grasa habían aumentado significativamente el peso corporal, el total

de colesterol y la resistencia a la insulina con respecto a los alimentados con dieta estándar o fructosa. Otra modalidad de dieta con alto contenido de azúcar y grasa es la dieta de cafetería (CAF) (Sampey et al 2011) basada en administrar a los animales alimentos sabrosos de alta densidad calórica que se pueden encontrar con frecuencia en nuestras dietas occidentales, como por ejemplo snacks, galletas, golosinas, patatas chips, o chocolatinas entre otros (Sabater et al 2016; Lalanza et al 2014; Goularte et al 2012; Caimari et al 2010). Estos alimentos se suelen administrar ad libitum junto con pienso estándar y agua. Como valor añadido a los otros modelos, la dieta CAF altera los patrones de alimentación y la conducta alimentaria; además, promueve la inflamación hepática (MacQueen et al 2007) y altera parámetros metabólicos generando hiperinsulinemia, hiperglicemia, intolerancia a la glucosa y a la insulina (Sagae et al 2012; Caimari et al 2010; Brandt et al 2010; Heyne et al 2009; Rolls et al 1980). Otra característica diferenciadora de la dieta CAF en relación con las dietas altas en grasa, es que la gran variedad de alimentos que posee, sumado a su densidad energética induce hiperfagia voluntaria, estimulando así una excesiva ganancia de peso y masa grasa (Martire et al 2013; Shafat et al 2009). Adicionalmente, se ha observado que la dieta CAF modela el fácil acceso que tenemos los humanos a la comida, lo cual estimula la alimentación hedónica (Scheggi et al 2013) y refuerza el consumo de alimentos hipercalóricos.

Comparada con otras dietas altas en grasas, y debido a las cualidades que acabamos de describir, se cree que la dieta CAF promueve de mejor forma y más rápidamente un aumento de peso exagerado e induce un fenotipo similar al síndrome metabólico en humanos (Sampey et al 2011). Un estudio demostró que una vez los animales comenzaban a comer dieta CAF, la motivación por comer otros tipos de alimentos decaía drásticamente, más aún si la dieta dejaba de ser variada y si se reemplaza por pienso estándar (South et al 2014). En otro estudio, se observó que los roedores jóvenes expuestos a dieta CAF tendían a comer mucho entre las comidas (alimentación de tipo *snack*) y a consumir menos cantidad de alimentos cuando era hora de comer (Martire et al 2013).

### *¿Por qué comemos alimentos sabrosos “comfort food”?*

Parece que los estados de ánimo negativos, por ejemplo asociados a insatisfacciones del peso o la figura inducen en los humanos alteraciones en las conductas alimentarias, a modo de restricciones de alimentos, atracones de comida o sobrealimentación (Goldschmidt et al 2008). Un estudio con participantes sanos demostró que los estados de tristeza favorecían el consumo de alimentos hedonísticamente gratificantes, dulces

y/o de alto contenido en grasas, mientras que la ingesta durante un estado de felicidad favorecía el consumo de frutos secos (Garg et al 2007). En particular, la sobrealimentación puede ser influida por rasgos de conducta conocidos como de “desinhibición” que llevarían a una pérdida de control de los hábitos alimenticios, aumentando excesivamente la ingesta de algunos alimentos, y mostrando así la vulnerabilidad individual que tenemos a comer en respuesta a ciertos estados emocionales (alimentación emocional; Bellisle et al 2009). Según una teoría psicósomática, las conductas de sobre alimentación se utilizan como un mecanismo para regular y reducir estados emocionales negativos y en los adolescentes obesos han sido asociadas con desordenes de ansiedad y depresión (Braet et al 2008; Ganley et al 1989).

Schulz et al (2010) evaluaron la sintomatología depresiva con el inventario de depresión de Beck (BDI), los rasgos y estado de ansiedad con el inventario de ansiedad estado/rasgo (STAI), los hábitos alimentarios (alimentación y restricción emocional) con el cuestionario de conductas alimentarias de Dutch (DEBEQ) y el consumo de alimentos en 88 mujeres adolescentes obesas. Encontraron que el consumo de alimentos aumentó significativamente el estado de ánimo. Las mujeres con trastorno de atracones compulsivos presentaron niveles más altos de ansiedad, de sintomatología depresiva y de alimentación emocional en relación con el grupo que no presentaba el diagnóstico de atracones compulsivos. La ansiedad y la alimentación emocional eran predictores de un trastorno de atracones compulsivos. En general, el consumo de alimentos sabrosos mejoró el estado de ánimo en toda la muestra de mujeres obesas.

También se han observado que sujetos sometidos a una situación estresante generan cambios en los patrones de conducta alimentaria en dos grandes direcciones. Cerca del 40% de las personas decrece el consumo alimentario mientras que el 40% incrementa su consumo en situaciones de estrés (Yau et al 2013; Pasquali et al 2012). Estos resultados variables pueden estar relacionadas con el tipo de estrés manipulado, el tiempo que dure el estrés, y las variaciones en los niveles de saciedad y hambre al inicio de la situación de estrés (Yau et al 2013). Al parecer, frente a estresores severos se genera un decrecimiento de la ingesta alimentaria y frente a formas de estrés más moderadas se observa un incremento de la ingesta (Torres et al 2007). Estudios retrospectivos hechos en infantes de marina estadounidense mostraron que durante los primeros días de combate, el 68% de los participantes reportó comer menos de lo habitual (Popper et al 1989). Contrariamente, en estudios realizados en un ambiente académico en los que se evaluó el efecto de un estresor psicológico (examen escolar) sobre el consumo de alimentos en 225 hombres y mujeres estudiantes de secundaria

detectaron que la ingesta total de energía fue significativamente mayor el día del examen, en comparación con un día libre de estrés (2.225 frente a 2.074 kcal; Michaud et al 1990).

Se ha visto que en condiciones controladas, niveles elevados de cortisol pueden aumentar el consumo de calorías. Mujeres sanas (n=59) fueron expuestas en diferentes días a dos tipos de pruebas; una sesión de estrés (resolución de puzles, restas y grabación de un discurso) o a una sesión de control sin estrés. Se observó que quienes incrementaban más el nivel de cortisol desde el inicio hasta el final de la prueba consumían significativamente más calorías y alimentos altos en grasa y azúcar durante el día que se realizaba la sesión de estrés en comparación con las participantes que incrementaba menos el nivel de cortisol (220 vs 140 kcal). Consumiendo ambos grupos la misma cantidad de alimentos en los días de control (sin situaciones estresantes). El estudio concluyó que niveles altos de cortisol en respuesta a una situación de estrés podrían tener influencia en la conducta alimentaria (Epel et al 2001).

En relación género, se ha observado que frente a situaciones de estrés, las mujeres tienen mayor consumo de alimentos que los hombres. Un estudio de Bennet et al (2013) tenía como objetivo determinar las conductas de alimentación emocional en hombres y mujeres universitarios. Los estudiantes fueron evaluados con el *Weight Related Eating Questionnaire* (WREQ) y se seleccionaron por comer frente a una situación de estrés o que les hiciera sentir mal. Los resultados mostraron que tanto las mujeres como los hombres preferían alimentos sabrosos y confortables frente a una situación estresante o que les hiciera sentir mal. Lo interesante fue que las principales razones emocionales que daban unos y otros eran diferentes. En las mujeres, el principal desencadenante de la alimentación emocional fueron los niveles de estrés y sentimientos de culpa mientras que en los hombres fueron las emociones negativas como el aburrimiento y la ansiedad. En otro estudio, se observó que las mujeres (54%) incrementaban más el consumo de alimentos sabrosos cuando estaban estresadas en comparación a los hombres (17%) (Zellner et al 2006).

Por otro lado, parece que quienes tienen un exceso de peso de base presentan una mayor tendencia a comer más y/o tener más apetito en situaciones de estrés en comparación con sujetos de peso normal (Slochower et al 1981). Al comparar la ingesta alimentaria posterior a un estado emocional negativo o estresante (medido con un cuestionario de alimentación emocional) entre estudiantes universitarios de bajo peso, peso normal o sobrepeso (medido con IMC), se observó que frente a estados emocionales negativos o situaciones estresantes los estudiantes con sobrepeso

consumían comían más que los estudiantes de peso normal y de bajo peso (Gelieber & Aversa 2003). En un estudio longitudinal, se seleccionaron los niños que habían mostrado un incremento en el IMC de más de un 15% entre los 7 y 13 años y se comparó con un grupo de control que mantuvo su IMC en el mismo período de años. Los resultados indicaron que había una relación significativa entre el nivel de estrés (medido sobre la base de todos los datos acumulados en los registros de salud escolar y médica de la escuela) y el aumento de peso corporal (IMC) durante este período de 6 años (Mellbin et al 1989). En otro estudio, Yin et al (2005) en una muestra de 303 jóvenes (16,6 años de media) encontraron una asociación positiva entre el nivel de estrés evaluado a través de la *Adolescent Resource Challenge Scale* y el estado nutricional medido con el IMC y la adiposidad medida con pliegues cutáneos.

La elección de los alimentos sabrosos (como fast-food, snack o alimentos calóricamente densos) frente a emociones negativas no es una casualidad. Es posible que estos alimentos induzcan cambios en las vías corticales y subcorticales implicadas en el aprendizaje, en la memoria de la recompensa y el placer, así como una inhibición en los sistemas de control que estimule el consumo de alimentos sabrosos (de Macedo et al 2016; Yau et al 2013). El aumento de las hormonas asociadas al estrés crónico (glucocorticoides), la ingesta de alimentos sabrosos y la consiguiente acumulación de grasa servirán de señales de realimentación que reducirán la percepción del estrés reforzando así la conducta alimentaria inducida por el estrés (Torres et al 2007; Dallman et al 2005). Zellner et al (2006) demostraron que estudiantes (n=34) sometidos a una situación de estrés (resolver un problema sin solución) comieron significativamente más cantidad de alimentos poco saludables (golosinas) ( $6,9 \pm 10,4$  vs  $1,2 \pm 2,4$  gr) y menos cantidad de alimentos bajos en grasa (uvas) ( $4,0 \pm 7,2$  gr vs  $15,6 \pm 12,3$  gr) en comparación al grupo control que no había sido sometido a una situación de estrés. En otro estudio realizado por los mismos autores con 169 estudiantes universitarios realizado por los mismos autores, el 64% de los participantes declararon comer alimentos dulces altos en grasa y calorías cuando estaban estresados, el 59% de los cuales indicó que el chocolate era el alimento que más comía en situaciones de estrés porque los hacía sentir bien. Cuando se evaluaron el apetito y los hábitos de alimentación en una muestra de 272 universitarias a través de un cuestionario de alimentación asociada al estrés, se observó que el 62% de las participantes experimentaba un aumento del apetito cuando se sentían más estresadas. El 80% reportó comer comida sana cuando no se sentían estresadas y sólo el 33% comía comida sana cuando estaban estresadas. Los alimentos dulces más consumidos en situaciones de estrés fueron pasteles, chocolates, golosinas, helados y magdalenas,

mientras que los alimentos elaborados más consumidos fueron hamburguesas, pizzas y sándwich de carne (Kandiah et al 2006).

Sin embargo, hay otros resultados inconsistentes, que sugieren que el grado de severidad del agente estresor podría ser un factor discriminante, de manera que el estrés leve podría inducir hiperfagia, mientras que el estrés más severo produciría hipofagia (Torres et al 2007). En un estudio prospectivo, una muestra de 158 hombres y mujeres completaron 84 registros diarios de estrés. Si bien los participantes informaron que disminuían y/o aumentaban el consumo en respuesta al estrés, globalmente los participantes fueron más propensos a disminuirlo. Además, la probabilidad de comer menos aumentaba a medida que la severidad del estresor aumentaba (Stone et al 1994). Además, Oliver & Wardle (1999) en una muestra de 212 estudiantes universitarios ( $24,7 \pm 7,3$  años) evaluaron mediante un cuestionario de auto-relleno la influencia del estrés (elaborar un discurso) en la cantidad y tipo de alimento consumido. Encontraron un incremento del consumo de snacks de comida sabrosa en el 73% de los estudiantes en la situación estresante en comparación con una situación no estresante, y ello era independiente del género y del estado nutricional; aun cuando sólo el 38% de los estudiantes aumentaron el consumo total de alimentos y el 42% lo disminuyeron frente a una situación de estrés.

Los estudios en roedores corroboran que la severidad del estresor influye en el consumo de alimentos, de la misma forma que se observa en algunos estudios en humanos. El estrés severo (inmovilización) administrado de manera crónica (Valles et al 2000) o aguda (Martí et al 1994) disminuyó el consumo de pienso en los animales. Sin embargo, un estresor más leve administrado de manera aguda (pinchazo en la cola) aumentó la ingesta de leche condensada azucarada (Rowland et al 1976) sin alterar la ingesta de pienso (Bertiére et al 1984). Así, el estrés leve parece no tener efecto sobre la ingesta de alimentos cuando los alimentos disponibles tienen características hedónicas limitadas, pero puede aumentar el consumo cuando los alimentos que se ofrecen son altamente apetecibles. Frente a la presencia de agentes estresores la ingesta de alimentos sabrosos y con alta densidad calórica podrían reducir los niveles de estrés y ansiedad (Zeeni et al 2013; Dallman et al 2005). Se ha observado una disminución de conducta ansiosa en ratas jóvenes alimentadas durante 5 días con una dieta alta en grasas y azúcares (Alsio et al 2009), en ratas adultas alimentadas durante 4 meses con alimentos sabrosos y confortables (Souza et al 2007) o en ratas adolescentes alimentadas con dieta CAF y/o ejercicio que habían sido separadas de sus madres durante la infancia (Maniam et al 2010).

*Obesidad, ansiedad y depresión*

En la actualidad, la obesidad se considera una epidemia global tanto en niños como en adultos (Janssen et al 2005), alcanzando en Estados Unidos una prevalencia del 34,9% en adultos mayores de 20 años en el 2012 (Ogden et al 2014) y del 17,3% en niños de 2-19 años (Skinner et al 2014). En el año 1995 la OMS declaró que la obesidad es una enfermedad y junto con el sobrepeso constituyen el 5% de la mortalidad mundial (OMS, Recomendaciones mundiales de actividad física 2010). En el último meta-análisis hecho hasta la fecha en relación a la prevalencia de obesidad mundial, se analizaron los resultados de 1698 estudios epidemiológicos realizados entre 1975 y 2014 que involucraron a más de 19 millones de personas de 186 países. La principal conclusión del estudio es que en el transcurso de los últimos 40 años se ha pasado de un mundo en el que la población delgada doblaba a la obesa a otro mundo en el que hay más personas obesas que delgadas, de manera que desde 1975, la proporción de personas obesas corregida por la edad, se ha triplicado en los hombres y doblado en las mujeres. Si continúa la misma tendencia, para el 2025 la prevalencia de obesidad a nivel mundial podría alcanzar un 18% en hombres y un 21% en mujeres [NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) 2015] y se pronostica que para aquella fecha la obesidad será la principal causa de problemas de salud (Ezzati et al 2002).

Revisiones de la literatura han señalado que existen mayores porcentajes de patologías neuropsiquiátricas y trastornos del ánimo en la población obesa que en la población de peso normal, principalmente en las mujeres (Allison et al 2009). Dickerson et al (2006) encontraron que el 50% de las mujeres y el 41% de los hombres de una muestra de pacientes psiquiátricos eran obesos, en comparación con el 27% de las mujeres y el 20% de los hombres de una muestra no psiquiátrica. Usando los datos de una encuesta poblacional Canadiense (n=36.584) McIntyre et al (2006) reportaron que los individuos con historia de vida de un trastorno del estado de ánimo (Bipolaridad o depresión mayor) tenían una probabilidad mayor de ser obesos (19%) en comparación con quienes no tenían trastornos del ánimo (15%,  $p < 0,05$ ).

La obesidad puede estar significativamente asociada con trastornos del ánimo, a depresión y la ansiedad (Stunkard et al 2003). Un estudio realizado en una muestra no-clínica de 2482 adultos americanos encontró una asociación entre la obesidad (medido con IMC) y la sintomatología depresiva y el riesgo de presentar depresión [medido con la "*Center for Epidemiological Studies Depression Scale*" (CES-D)]. El 14,2% de la población fue categorizada con riesgo de presentar depresión y el análisis de regresión logística indicó que el IMC fue relacionado con mayor riesgo de depresión ( $p < 0,05$ ) con

un Odd ratio de 1,41 [95% IC = 1.07-1.86] Además se observaron diferencias de sexo en esta relación, con una asociación positiva entre la obesidad y la depresión en las mujeres y una asociación negativa o nula en los hombres (Johnston et al 2004). En otro estudio realizado con datos de la 3ª encuesta nacional de nutrición y salud (1988-1994) de Estados Unidos observaron que en personas de 15-39 años, la obesidad (IMC  $\geq$ 30) se asociaba con el diagnóstico de depresión (DSM III) en mujeres pero no en hombres (Onyike et al 2003).

Sin embargo, pese a que la obesidad puede ser un factor de riesgo de trastornos de ansiedad, son escasos los estudios enfocados a dilucidar una relación entre ambas condiciones. Se ha sugerido que la obesidad podría conducir a trastornos de ansiedad a través de diversas vías. Por ejemplo, la discriminación relacionada con el peso y el estigma pueden ser profundamente dolorosos para las personas obesas (Cairney et al 2008); y el efecto negativo de la obesidad en la salud y calidad de vida puede ser particularmente estresante (Vink et al 2008).

Cilli et al (2003) utilizando una muestra clínica de un amplio rango etario (13-72 años) han detectado que las personas obesas (IMC  $\geq$ 30) tienen significativamente una puntuación más alta en el test de sintomatología ansiosa (medido con el *Anxiety Screening Questionnaire* (ASQ)) (6.33 +/- 2.38 vs 5.02 +/- 2.22;  $p < 0,001$ ) y además tienen una prevalencia de ansiedad significativamente superior 42% vs 18% ( $p < 0,001$ ) en comparación con las personas con peso normal. Jorm et al (2003) en una muestra no-clínica de jóvenes (20-24 años) estableció que las mujeres con un IMC  $\geq$ 30 (peso y talla auto-reportada) se asociaban a mayor sintomatología ansiosa (medido con la Escala de ansiedad de Golberg), mientras que la asociación era débil e inconsistente en los hombres del mismo estado nutricional. Sin embargo, John et al (2005) en una muestra no-clínica de 4063 adultos (18-64 años) no encontraron una asociación entre la obesidad (evaluada con IMC) y la ansiedad (medida con una entrevista estandarizada (*Composite International Diagnostic Interview*)). Garipey et al (2010) revisaron la literatura de los últimos 45 años relacionada entre la obesidad y los trastornos de ansiedad en la población general y encontraron 16 estudios (2 prospectivo y 14 transversales) que cumplieron con los criterios de selección metodológicos. Encontraron que había muy pocos estudios prospectivos y presentaban resultados mixtos, de manera que 1 encontró una asociación entre los dos factores mientras que el otro no; y 7 de los 12 estudios transversales mostraban una asociación positiva entre la obesidad y los trastornos de ansiedad. La revisión concluye que pese a que existe un nivel moderado de evidencia que confirme una asociación positiva entre la obesidad y los trastornos de ansiedad, la asociación exacta entre estas dos condiciones no es robusta.

La relación entre obesidad y trastornos del ánimo es diferente entre los subgrupos de población con diferentes características sociodemográficas (Garipey et al (2010). En población infanto-juvenil (5-17 años) con sobrepeso y obesidad se han encontrado porcentajes de un 7-10% de depresión y un 33-40% de trastornos de ansiedad, valores que son ligeramente más altos que los detectados en los adultos obesos por algunos autores (Vila et al 2004; Goodman et al 2002; Zipper et al 2001). La prevalencia de depresión es similar a la estimada por la OMS para la población mundial (10% para hombres y 20% para mujeres) (WHO, World mental health survey 2000), pero superior a la prevalencia de ansiedad si se compara con la estimada para la población América (8 %) (Wittchen 2002). Un estudio con 155 niños y adolescentes obesos de 5 y 17 años que incluía una entrevista de diagnóstico estandarizada (K-SADS R) y cuestionarios de auto-relleno STAIC para la ansiedad rasgo y CDI para depresión, se encontró que el 33,3%±8 de los niños (<13 años) y el 33,4±8 de los adolescentes(>13 años) tenían rasgos de ansiedad (STAIC ≥34) y que el 7,5%±4,6 de los niños y el 9,3±5.8 de los adolescentes tenía sintomatología depresiva alta (CDI ≥13) (Vila et al 2004).

Algunos autores han encontrado que la obesidad en la adolescencia (principalmente obesos mórbidos) es un factor predictor de mayores niveles de sintomatología depresiva y ansiosa (Petry et al. 2008; Goodman et al 2002; Pine et al 2001). Niños y niñas (entre 6 a 17 años de edad) con diagnóstico de depresión (medido con una entrevista estandarizada) tenían un IMC significativamente mayor (26,1±4,2 vs 24,1±3,1) en la adultez (10-15 años después) en comparación con un grupo control sin depresión mayor, indicando que quienes sufrían depresión mayor en la infancia tenían un riesgo dos veces mayor de tener sobrepeso en la adultez (Pine et 2001). Petry et al (2008) en una amplia muestra (n=41.654; 17-64 años) mostró que la obesidad (IMC>30) aumentaba las probabilidades de padecer cualquier trastorno del estado de ánimo o de personalidad, con odds ratios que iban de 1,21 a 2,08. Las subcategorías de trastornos de ansiedad que se produjeron en tasas significativamente más altas entre las categorías de personas con sobrepeso y obesidad fueron: trastorno generalizado de ansiedad, pánico y fobia específicos.

Anderson et al (2006) investigaron si los cambios de peso de la adolescencia a la adultez se asociaban con la presencia de sintomatología ansiosa (medido con una entrevista diagnóstica estructurada "*The Diagnostic Interview Schedule for Children*" y confirmado con el DSM-IV) en una muestra no-clínica. Evaluaron a 820 adolescentes (403 chicas y 417 chicos) entre 9-18 años y luego los reevaluaron 10 y 20 años después. Tanto en mujeres como hombres los porcentajes de obesidad y ansiedad fueron aumentando con la edad, aun cuando el aumento de la obesidad fue más pronunciado en hombres y

el de la ansiedad en mujeres. En mujeres de todas las edades, una mayor sintomatología ansiosa se asociaba con obesidad. La media de IMCz para que las mujeres hubieran tenido un trastorno de ansiedad fue 0,13 unidades más alto en comparación con las mujeres de la misma edad y nivel socioeconómico que no habían tenido un trastorno de ansiedad. En cambio, en los hombres, no se observó una asociación entre estas dos condiciones. Algunos autores sugieren que estas diferencias podrían deberse a la mayor discriminación social hacia las mujeres obesas (Puhl et al 2009).

En resumen, es crucial comprender mejor la relación entre la salud mental y la obesidad en la adolescencia ya que este es un momento crítico para la construcción de la personalidad y el desarrollo psicosocial. En la presente tesis estudiamos la prevalencia del sobrepeso/obesidad y las características psicológicas de niños y adolescentes chilenos.

---

*OBJETIVOS E HIPÓTESIS*

---

El objetivo principal de la tesis fue evaluar los efectos de la práctica de ejercicio físico en estudios con animales y con humanos, sobre variables conductuales, metabólicas, nutricionales y fisiológicas considerando diferencias de género y edad.

Los objetivos específicos planteados en la primera parte en los estudios con animales fueron:

- Determinar los efectos del ejercicio físico aeróbico moderado de larga duración sobre las estrategias de afrontamiento en un test de evitación activa en dos sentidos en ratas adultas, considerando diferencias entre machos y hembras.
- Determinar si el ejercicio físico aeróbico moderado de larga duración modifica la respuesta hormonal del eje HPA después del test de evitación activa en dos sentidos en ratas hembras adultas.
- Determinar efectos de la dieta CAF sobre las estrategias de afrontamiento en el test de evitación activa en dos sentidos y sobre la conducta ansiosa en el test de campo abierto en ratas hembras adultas jóvenes
- Determinar si dos protocolos de ejercicio aeróbico de diferentes intensidades (intensidad moderada y más alta) combinado con dieta CAF podían modificar la adquisición de la evitación activa en dos sentidos y la conducta ansiosa de ratas hembra adultas jóvenes.

Los objetivos específicos planteados en la segunda parte en los estudios con humanos fueron:

- Analizar el estado nutricional, la condición física, el rendimiento escolar y variables psicológicas de ansiedad en escolares de educación primaria con peso normal y con sobrepeso/obesidad considerando diferencias por el género.
- Evaluar el estado nutricional, la condición física, el rendimiento académico y variables psicológicas de ansiedad, depresión y autoestima en estudiantes de secundaria y universidad con peso normal y sobrepeso/obesidad y determinar si estas variables pueden ser afectadas diferencialmente por el género o la edad.

Las hipótesis para los estudios en animales fueron:

- El ejercicio físico aeróbico moderado de larga duración debería disminuir las conductas relacionadas con la ansiedad y favorecer las estrategias de afrontamiento de manera diferencial en machos y en hembras.
- El ejercicio físico aeróbico moderado de larga duración podría modificar la respuesta hormonal del eje HPA en una situación de estrés en las ratas hembra adultas.
- El consumo de dieta CAF debería alterar las variables metabólicas y la adquisición de la evitación activa en dos sentidos.
- El ejercicio aeróbico debería revertir los efectos negativos de la obesidad a nivel metabólico y a nivel de estrategias de afrontamiento frente a situaciones de estrés.

Las hipótesis para los estudios en humanos fueron:

- Deberían existir diferencias en la condición física, el rendimiento académico y el nivel de ansiedad en escolares de educación primaria según el estado nutricional y el género.
- La condición física, el rendimiento académico, o los parámetros psicológicos de salud mental podrían ser diferentes entre géneros y estado nutricional en los estudiantes de educación secundaria y universitaria.



---

*PRIMERA PARTE, estudios en animales*

---

## Metodología de la primera parte

La tesis tiene un formato por compilación de artículos científicos y manuscritos no publicados, por lo que cada uno de los artículos/manuscritos posee una metodología particular que se describe detalladamente. Sin embargo existen en cada uno de los modelos de investigación, procedimientos, variables y test comunes que para el mejor entendimiento de los resultados se describen brevemente a continuación.

### *Sujetos*

Todos los experimentos se hicieron con ratas Sprague-Dawley obtenidas del *Servei d'Estabulari de la UAB*. Los animales fueron estabulados por parejas y mantenidos en condiciones de ciclo de luz/oscuridad de 12/12h (iniciando el ciclo de luz a las 08:00 h), temperatura a  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$  y humedad relativa del  $50\pm 10\%$ , con acceso *ad libitum* a pienso y agua. Todos los protocolos de experimentación fueron aprobados por el comité de ética de la UAB, siguiendo los Principios de cuidados de animales de laboratorio y realizados de acuerdo con el *European Communities Council Directive (86/609)*.

### *Procedimientos*

- *Cinta trotadora o treadmill*. La cinta trotadora constaba de 3 carriles (45 cm de largo, 11 cm de ancho y 12 cm de alto; Columbus Instruments, USA) dispuestos en paralelo, separados por paredes y sin inclinación (Figura 1B). Las sesiones de entrenamiento eran de 30 min, 4-5 días por semana, entre las 09:00 y 14:00 hr. Brevemente, los animales fueron habituados a la cinta ergométrica en la primera sesión con velocidad=0m/min; a partir de la segunda sesión se comenzó progresivamente a aumentar la intensidad del ejercicio hasta llegar a velocidades de 12 m/min o 17 m/min según el grupo experimental, las cuales se mantuvieron hasta acabar el experimento. Los animales del grupo control se colocaron en la cinta sin movimiento (0m/min) durante la misma cantidad de tiempo y el mismo número de sesiones que los grupos entrenados. Incluimos un tercer grupo de ratas que se mantuvieron en sus propias jaulas, al cual denominamos grupo sedentario. Con los grupos control y sedentario podíamos evaluar los efectos de la manipulación en la cinta ergométrica específicamente e independientemente de los efectos del ejercicio “*per se*”.
- *Dieta cafetería*. Brevemente, se componía de (cantidad por día y animal): bacon o frankfurt (8-12 gr), galleta con pate (12-15 gr), galleta con queso (10-12 gr), magdalenas o ensaimadas (8-10 gr), zanahorias (6-8 gr), leche azucarada (220

gr/l; 50 ml), agua y pienso *ad libitum*. La dieta CAF comenzó a administrarse después del destete (Figura 2).



**Figura 2. Dieta cafetería usada en estudios con animales (Parte 1B y anexo 1).**

#### *Diseños experimentales*

Se utilizaron diseños factoriales de dos factores:

- Parte 1A: ejercicio (*sedentario, control 0 m/min, moderado 12 m/min*) x sexo (*machos, hembras*).

Ratas Sprague-Dawley machos y hembras de 12-14 semanas de vida fueron enjauladas en parejas. Aleatoriamente fueron asignadas a uno de los 6 grupos experimentales: machos sedentario (M-SED,  $n=8$ ,  $517.5 \pm 12.0$  g), machos control (M-CON,  $n=8$ ,  $545.2 \pm 9.3$  g), machos treadmill (M-TM,  $n=11$ ,  $549.9 \pm 12.2$  g), hembras sedentario (H-SED,  $n=11$ ,  $329.5 \pm 6.1$  g), hembras control (H-CON,  $n=8$ ,  $312.2 \pm 6.7$  g) y hembras treadmill (H-TM,  $n=9$ ,  $321.1 \pm 4.8$  g). Los animales que entrenaron en la treadmill lo hicieron 30 minutos por sesión, 4-5 días a la semana durante 32 semanas.

- Parte 1B: ejercicio (*sedentario, control 0 m/min, moderado 12 m/min, más intenso 16 m/min*) x dieta (*pienso estándar, CAF*).

Ratas Sprague-Dawley hembras de 21-23 días de vida fueron enjauladas por parejas. Aleatoriamente fueron asignadas a uno de los 8 grupos experimentales: sedentario dieta estándar (SED-ST,  $n=10$ ), sedentario dieta CAF (SED-CAF,  $n=10$ ), control dieta estándar (CON-ST,  $n=10$ ), control dieta CAF (CON-CAF,  $n=10$ ), ejercicio moderado dieta estándar (TML-ST,  $n=12$ ), ejercicio moderado dieta CAF (TML-CAF,  $n=12$ ), ejercicio más intenso dieta estándar (TMH-ST,  $n=10$ ), ejercicio más intenso dieta CAF (TMH-CAF,  $n=9$ ). El entrenamiento en el

treadmill (30 min diarios, 5 sesiones semanales) y la administración de la dieta (estándar y CAF) se realizaron durante 8 semanas.

En ambos experimentos se utilizaron dos grupos control, de manera que los animales del grupo sedentario (SED) siempre permanecieron en la jaula y los animales del grupo control (CON) fueron colocados en la cinta ergométrica el mismo número de sesiones y durante el mismo tiempo que los animales entrenados. Siendo sometidos así al mismo tipo de manipulación que el grupo entrenado con la cinta ergométrica a velocidad 0m/min durante todas las sesiones. Comparando estos dos grupos se pudieron controlar los efectos del “handling” y la exposición al lugar donde se hacía el ejercicio y ‘separarlos’ de los efectos del ejercicio físico “*per se*”.

*Variables dependientes evaluadas y materiales utilizados.*

- *Variables conductuales.* Se evaluó la conducta ansiosa y la actividad motora en el campo abierto y la adquisición de la evitación activa en dos sentidos en la jaula de dos compartimientos (*Shuttle Box*).
  - a. *Test de campo abierto.* Utilizamos una arena cuadrada (83 x 83 x 34 cm) con paredes de plexiglass blanco (Figura 3). Los animales se colocaron en jaulas individuales y se trasladaron a la sala 30 minutos antes del test. Luego, se colocaron en el centro de la arena y se les permitió que exploraran libremente el aparato durante 30 minutos. Se midió la distancia total recorrida y el tiempo de permanencia en la zona central de la arena. Se considera que el tiempo de permanencia en la zona central es un indicador del estado de ansiedad del animal, de manera que a menos tiempo más ansiedad (Archer et al 1973). Tanto la distancia como el tiempo en la zona central se registraron usando una cámara HD (JVC) y se analizaron con un sistema de video-tracking (ANY maze, San Diego Instruments).



**Figura 3. Campo abierto usado en estudios en animales.**

- b. *Evitación activa en dos sentidos (Shuttle Box test (SB)).* El aparato (Panlab, S.L.) está dividido en dos compartimientos negros de iguales dimensiones (25 x 25 x 25 cm) conectados por una puerta central (8 cm de ancho x 10 cm de alto) y que poseen una parrilla eléctrica en el suelo (Figura 4). La tarea consiste en que el animal aprenda a evitar el estímulo aversivo (estímulo incondicionado, shock eléctrico, 0,6 mA, 10s de duración) cruzando al compartimiento contrario en el que está, en presencia de la señal de aviso [estímulo condicionado, EC; luz (7 watt) + sonido (2400 hz – 40db; 10 segundos)]. En la primera sesión las ratas tuvieron un tiempo de habituación al aparato de 5 min (parte 1A) o 10 min (parte 1B). En la parte 1A se administraron 5 sesiones de 30 ensayos cada una, y en la parte 1B se administró 1 sesión de 40 ensayos. Se contabilizaron el número de cruces durante el EC y el número de cruces durante el período entre ensayos, el número total de evitaciones (respuestas correctas), la latencia de evitación (tiempo en cruzar al otro compartimiento desde el inicio del EC) y las defecaciones. Se contabilizó el criterio de aprendizaje 8 a partir del número de ensayos realizados hasta conseguir 8 evitaciones seguidas dentro de una misma sesión (Escorihuela et al 1995).



**Figura 4. Evitación activa en dos sentidos (Panlab, Barcelona, España).**

- *Variables metabólicas y fisiológicas.* En el estudio de la parte 1B de la tesis se obtuvo el peso del tejido adiposo blanco retroperitoneal y el peso hepático. Se determinaron los niveles de glucosa, insulina, triglicéridos, colesterol, ácidos grasos libres no esterificados (non-esterified free fatty acid (NEFAs)) y leptina en suero. A través del análisis R-QUICKI se midió la sensibilidad a la insulina.

- *Variables neuroendocrinas.* El estudio de la parte 1A se evaluaron los niveles de hormona adenocorticotropa (ACTH) y corticosterona plasmáticos en condiciones de ayuno (09:00 am) y después de la sesión 1 de adquisición en la evitación activa en dos sentidos (inmediatamente después de finalizar y 30 minutos más tarde). Las muestras fueron tomadas de sangre venosa de la cola de la rata en una sala separada de las salas de estabulación y de experimentación.
- *Variables nutricionales y antropométricas.* Se midieron el peso corporal, la cantidad promedio de consumos diarios de agua, leche, líquidos totales, pienso y sólidos totales para cada animal. Además, se calcularon las cantidades de kilocalorías (KC) y macronutrientes consumidos (proteínas, grasa, carbohidratos y fibra) por día y por animal.

### *Análisis estadístico*

Los datos fueron analizados con el programa estadístico *Statistical package for social sciences* (IBM SPSS v18 y 21 Inc., USA). Se aplicaron pruebas paramétricas (T-test de muestras independientes, pareadas, One-way ANOVA, Two-way ANOVA y two-way ANOVA de medidas repetidas). Algunas variables fueron transformadas a logaritmo para obtener homogeneidad de varianzas. Las variables que no obtuvieron homogeneidad de varianza mediante transformación logarítmica se analizaron con pruebas no paramétricas (Kruskall Wallis, Mann Whitney U test). Las comparaciones *post hoc* fueron hechas con los test de Bonferroni y LCD. En el apartado análisis estadístico de cada artículo se detallaron las pruebas estadísticas utilizadas. Los valores fueron expresados en medias  $\pm$  error estándar de la media (SEM) Se ha considerado un nivel de significancia estadística de  $p < 0,05$  para todos los tests.

## Resultados de la primera parte

## Parte 1A:

www.nature.com/scientificreports

## SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

## Long-term moderate treadmill exercise promotes stress-coping strategies in male and female rats

Received: 03 March 2015  
 Accepted: 05 October 2015  
 Published: 05 November 2015

Jaume F. Lalanza<sup>1,2</sup>, Sandra Sanchez-Roige<sup>2,3</sup>, Igor Cigarroa<sup>2,3</sup>, Humberto Gagliano<sup>4</sup>,  
 Silvia Fuentes<sup>4</sup>, Antonio Armario<sup>5</sup>, Lluís Capdevila<sup>2</sup> & Rosa M. Escorihuela<sup>2</sup>

Recent evidence has revealed the impact of exercise in alleviating anxiety and mood disorders; however, the exercise protocol that exerts such benefit is far from known. The current study was aimed to assess the effects of long-term moderate exercise on behavioural coping strategies (active vs. passive) and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal response in rats. Sprague-Dawley male and female rats were exposed to 32-weeks of treadmill exercise and then tested for two-way active avoidance learning (shuttle-box). Two groups were used as controls: a non-handled sedentary group, receiving no manipulation, and a control group exposed to a stationary treadmill. Female rats displayed shorter escape responses and higher number of avoidance responses, reaching criterion for performance earlier than male rats. In both sexes, exercise shortened escape latencies, increased the total number of avoidances and diminished the number of trials needed to reach criterion for performance. Those effects were greater during acquisition in female rats, but remained over the shuttle-box sessions in treadmill trained male rats. In females, exercise did not change ACTH and corticosterone levels after shuttle-box acquisition. Collectively, treadmill exercise improved active coping strategies in a sex-dependent manner. In a broader context, moderate exercise could serve as a therapeutic intervention for anxiety and mood disorders.

An active lifestyle has been extensively shown to be an effective way to promote physiological and mental health benefits. The guidelines that health professionals are using recommend at least 150 min of weekly moderate-intensity aerobic activity to promote health benefits<sup>1–3</sup>. Depending on the body weight, 150 min of moderate-intensity aerobic activity per week is equivalent to 800–1200 Kcal<sup>4</sup>. This dose of activity has been associated with favourable changes in a wide range of health parameters such as blood pressure, lipid and lipoprotein profiles, markers of inflammation, cognitive function, mental quality of life or depression in addition to other parameters<sup>4–8</sup>. More recently, exercise has emerged as a promising intervention for alleviating anxiety-like behaviour<sup>9</sup> (for a review). For example, moderate-intensity exercise (i.e. 150–180 min/week, for 8–12 weeks) has been shown to improve symptoms of agoraphobia, panic disorder or generalized anxiety disorder<sup>9</sup>. In individuals without a mental disorder, both short (i.e. 1–3 sessions) and chronic (i.e. 8–12 weeks) interventions of moderate-intensity exercise reduced trait and state anxiety, and diminished anxiety sensitivity or mood<sup>9</sup>.

<sup>1</sup>Institut de Neurociències, Departament de Psiquiatria i Medicina Legal, Fac de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, Catalonia, Spain. <sup>2</sup>Laboratori de Psicologia de l'Esport, Departament de Psicologia Bàsica, Fac Psicologia, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain. <sup>3</sup>Carrera de Kinesiologia, Facultad de Salud, Universidad Santo Tomás, Los Ángeles, región del Bio-Bio, Chile. <sup>4</sup>Red de trastornos adictivos (RTA) and Institut de Neurociències, Unitat de Fisiologia Animal, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain. <sup>5</sup>Present address: School of Psychology, University of Sussex, Falmer, Brighton BN1 9QJ, UK. Correspondence and requests for materials should be addressed to R.M.E. (email: rosamaria.escorihuela@uab.cat)

Using animal models, there are two main categories for measuring anxiety: unconditioned response tests (which require no training and usually have eco/ethological validity) and conditioned response tests (which often require training and involve learned/punished responses)<sup>10,11</sup>. Unconditioned tests, such as the elevated plus-maze and open field tests, evaluate coping strategies under novel threatening conditions (i.e. environments) that approximate to the natural open or unprotected spaces, shown to elicit anxiety<sup>9</sup>. Conversely, conditioned tests evaluate coping strategies by pairing a neutral stimulus with a threatening stimulus (electric shock) to promote specific avoidance/escape or defensive behavioural responses. For example, the animal may use passive or active responses to escape or avoid the shock<sup>11</sup>.

However, the rodent literature studying the effects of exercise on anxiety-like behaviour is controversial. On one hand, protocols of vigorous-intensity exercise (20 m/min, 45 min/day, 5 days/week for 18 weeks) did not change anxiety-like behaviour as measured in the elevated plus-maze, the open field, social interaction and conditioned freezing<sup>12</sup>. On the other hand, other studies have reported that treadmill exercise protocols of similar intensity or middle-intensity (14 m/min, 60 min/day) but longer duration (24, 64 weeks) led to a reduction of anxiety-like behaviour in the elevated plus-maze and the open field tests<sup>13,14</sup>, and counteracted the impairments produced by postnatal-maternal deprivation on fear memories<sup>15</sup>. In a more recent study, four weeks of treadmill exercise (30–60 min/day, 10–15 m/min, 5 days/week) diminished anxiety-like behaviour as measured in an open field in a rat model of Alzheimer's disease<sup>16</sup>. In addition to the behavioural changes, long-term moderate-intensity treadmill training (36 weeks, 12 m/min, 30 min, 4–5 days/week) also reduced the hormonal response to acute mild and severe stress<sup>17</sup>. Furthermore, models of voluntary exercise (i.e. wheel running for 6 months) have shown to reverse the behavioural helplessness/escape deficits induced by uncontrollable foot shock stress<sup>18</sup>. Altogether, exercise practice seems to decrease anxiety-like behaviour when administered under certain protocol conditions.

Here we aimed to investigate the impact of long-term moderate-intensity treadmill exercise on coping strategies in a conditioned conflict test involving anxiety. To test this hypothesis, we used the two-way (shuttle-box) active avoidance paradigm, which involves a fear-mediated conflict between a tendency to freeze against a tendency to actively escape (i.e. "passive/active avoidance conflict") in a box (shuttle-box) with two compartments separated by an open door. In order to escape or avoid the upcoming foot shock, signalled by a light and/or a tone, the animal must learn to change between the two compartments. Low baseline levels of anxiety (i.e. in low anxious rats<sup>19</sup>, or via administration of anxiolytic drugs<sup>20,21</sup>, or early postnatal handling<sup>19</sup>) are associated with enhanced performance and faster active avoidance responses in this task, whereas high anxious profiles (i.e. in anxious rats, or induced by administration of anxiogenic drugs or previous stress challenges) increase the freezing response and favour passive avoidance, resulting in longer response latencies and slower acquisition<sup>19–21</sup>.

From multiple lines of evidence using animal and human subjects, responses to fear, anxiety responses, coping strategies and the putative mechanisms underlying those emotional processes<sup>22–26</sup> have been shown to be sex-specific. Prevalence of anxiety disorders is 60% higher in women than in men<sup>27</sup>, which also show different avoidance behaviours<sup>28</sup> and treatment responses<sup>29,30</sup>. Hence, we aimed to study the impact of treadmill exercise (32-weeks) on active avoidance behaviour in male and female rats, to account for sex differences. Additionally, we previously found that treadmill training diminished ACTH stress response in male rats, both immediately after one session of shuttle-box and again 30 minutes after its termination<sup>17</sup>. In the present study we aimed to investigate whether hormonal stress response was modified after shuttle-box acquisition in treadmill trained female rats. To this aim plasma levels of ACTH and corticosterone were measured under resting conditions and after shuttle-box acquisition. The main advantages of our model over other models of exercise are that a) using a treadmill model, the duration and intensity of exercise can be adjusted by the experimenter, and hence control for the heterogeneity described with other models (e.g. voluntary exercise training<sup>31</sup>); and b) including two control groups: a sedentary male (M) and female (F) group, receiving no manipulation (M-SED and F-SED, respectively), and a control male and female group (M-CON and F-CON, respectively) exposed to a stationary treadmill under the same conditions as for the treadmill (TM) group can serve to detect the influence of other variables, such as daily handling and mere exposure to the treadmill apparatus<sup>32</sup>.

## Results

**Sex and treadmill exercise effects on body weight gain.** Over the treadmill training, male rats (M-SED: 201.7 ± 20.0 g; M-CON: 203.2 ± 15.9 g; M-TM: 181.2 ± 16.8 g) gained more weight than female rats (F-SED: 110.4 ± 14.6 g; F-CON: 85.4 ± 11.0 g; F-TM: 113.6 ± 11.4 g; sex effect:  $F(1, 63) = 47.62$ ,  $p = 0.001$ ), but treadmill exercise did not affect body weight gain ( $p = 0.753$ ). When the initial body weight (i.e. at the start of the shuttle-box experiment) was included in the analysis as a covariant, the observed sex differences disappeared ( $F(1, 63) = 49.30$ ,  $p = 0.001$ ; sex:  $p = 0.715$ ; exercise:  $p = 0.612$ ), suggesting that initial body weight differences between male and female rats may underlie the apparent sex-dependent effects of treadmill exercise. *Post-hoc* pair comparisons revealed that these sex-dependent effects were significant in male and female groups of sedentary and control conditions (M-SED vs. F-SED  $p = 0.002$ , M-CON vs. F-CON:  $p = 0.001$ ), but not between the M-TM and F-TM groups ( $p = 0.088$ ). Moreover, F-CON and F-TM groups residually differed in body weight gain ( $p = 0.07$ , Student's *t*-test), F-TM group showing higher body weight than F-CON at the end of the treadmill intervention.

	Group	Habituation crossings	Criterion 8	Mean escape latencies	Total avoidance responses
Females	SED	12.4 ± 0.9	59.7 ± 7	6.2 ± 0.5	100.6 ± 6.7
	CON	14.4 ± 0.8	45 ± 8.7	5.4 ± 0.3	116.8 ± 5.7
	TM	10.6 ± 1.9	28.9 ± 5.8 <sup>b</sup>	5.0 ± 0.3	118.3 ± 2.8 <sup>b</sup>
Males	SED	7.7 ± 0.9 <sup>a</sup>	78.9 ± 10.1	8.2 ± 0.6 <sup>**</sup>	79.6 ± 6.4 <sup>*</sup>
	CON	9.4 ± 0.7 <sup>*</sup>	78.9 ± 12.8	7.5 ± 0.6 <sup>*</sup>	87.6 ± 11.1
	TM	10.3 ± 0.9	48.5 ± 6.4	6.1 ± 0.3 <sup>*</sup>	105.6 ± 4.9 <sup>b</sup>

**Table 1.** Effects of 32 weeks of moderate treadmill training on two-way active avoidance performance (mean ± SEM). SED, sedentary; CON, control; TM, treadmill group (n = 8–14 per group). <sup>a</sup>p < 0.05 and <sup>\*\*</sup>p < 0.01 vs. the corresponding group of female rats (same type of intervention); <sup>b</sup>p < 0.05 vs. the corresponding SED group (same sex) after significant two-way ANOVA or Kruskal-Wallis test.

**Sex differences on two-way active avoidance performance.** Female rats performed more crossings than male rats during the habituation period (sex:  $F(1, 63) = 15.24, p = 0.001$ ; Table 1).

Overall female rats showed shorter escape latencies (Kruskal-Wallis:  $\chi^2(5) = 24.03, p = 0.001$ ), more avoidance responses (or greater number of escapes;  $\chi^2(5) = 16.13, p = 0.006$ ) and reached criterion for performance earlier (sex:  $F(1, 63) = 9.90, p = 0.003$ ), than male rats (Table 1). *Post-hoc* comparisons revealed that each female group showed a mean escape latency shorter than the one shown by the corresponding male group receiving the same type of intervention (SED:  $p = 0.005$ , CON:  $p = 0.035$  or TM:  $p = 0.046$ ; Table 1).

With regard to avoidance responses, the F-SED group performed more avoidance responses than the M-SED group ( $p = 0.047$ ), but there were no differences between the other groups on this variable (Table 1).

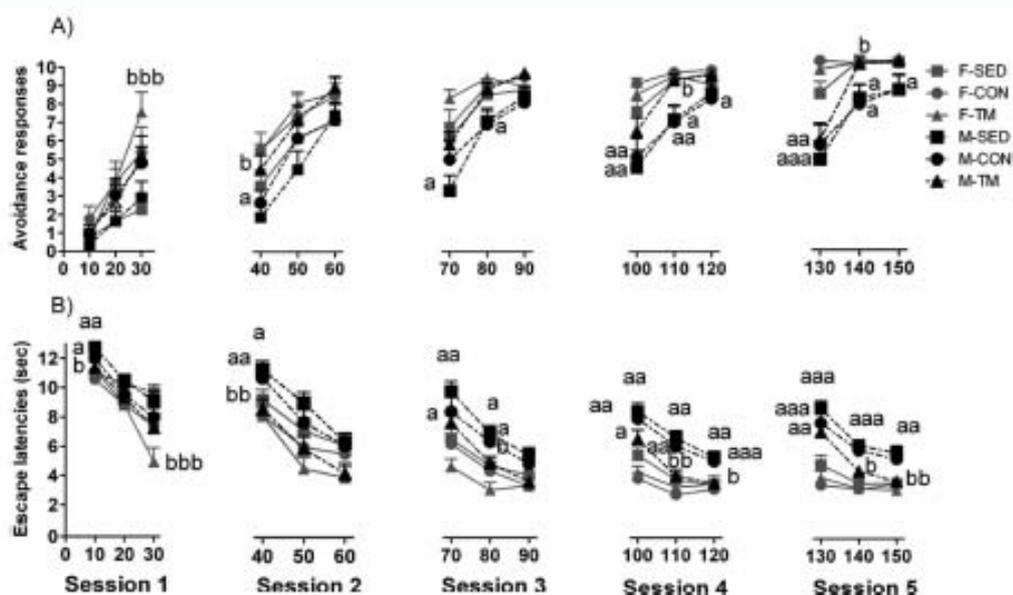
**Treadmill exercise effects on two-way active avoidance performance.** Table 1 shows the effects of treadmill exercise on shuttle-box performance. Treadmill exercise showed a tendency to affect the number of crossings during the habituation period in an opposite manner for male and female rats, i.e. increasing the number of crossings in male rats but decreasing in female rats ('sex × exercise':  $F(2, 63) = 3.12, p = 0.052$ ). *Post-hoc* analysis revealed that both M-SED and M-CON groups showed lower number of habituation crossings than the corresponding F-SED ( $p = 0.027$ ) and F-CON groups ( $p = 0.021$ ), whereas the M-TM and F-TM groups did not differ, both performing 10 crossings during the habituation period.

Treadmill exercise diminished the number of trials needed to achieve the criterion for performance (exercise:  $F(2, 63) = 7.27, p = 0.002$ ), the F-TM group achieving performance criteria during the first session (trials 1–30), the F-CON, the F-SED and M-TM groups during the second session (trials 31–60), and the M-SED and M-CON groups during the third session (trials 61–90). Treadmill exercise improvements on this variable appeared to be greater in female rats compared with male rats, since the F-TM group needed fewer trials than the F-SED group ( $p = 0.002$ ), whereas the corresponding M-TM and M-SED groups differed at a lower significant level ( $p = 0.036$ ).

Significant differences on mean escape latencies and total avoidance responses appeared in the analysis ( $\chi^2(5) = 24.03, p = 0.001$ , and  $\chi^2(5) = 16.13, p = 0.006$ , respectively). *Post-hoc* comparisons revealed that the M-TM group displayed faster escape latencies than the M-SED group ( $p = 0.001$ ), whereas F-TM and F-SED groups showed similar mean escape latencies ( $p = 0.08$ ). Moreover, both the F-TM and M-TM groups showed greater total number of avoidance responses compared with the corresponding F-SED ( $p = 0.025$ ) or M-SED ( $p = 0.01$ ) groups.

**Different sex and treadmill exercise response patterns on the transition from escape/avoidance behaviour.** The number of avoidance responses and escape latencies over the three 10-trial blocks of sessions 1–5 are depicted in Fig. 1A,B. As expected, all the animals improved overall performance over trials (avoidance responses:  $F(2, 116) = 199.6, p = 0.001$ ; escape latencies:  $F(2, 116) = 295.2, p = 0.001$ ) and over sessions (avoidance responses:  $F(4, 232) = 194.4, p = 0.001$ ; escape latencies:  $F(4, 116) = 168.3, p = 0.001$ ). A significant 'block × session' interaction appeared in the analysis (avoidance responses:  $F(8, 464) = 6.6, p = 0.001$ ; escape latencies:  $F(8, 464) = 9.3, p = 0.001$ ), suggesting that all the rats improved their performance during the final 10-trials of each session.

The patterns of avoidance responses and escape latencies were different between male and female rats over blocks and/or sessions. A significant 'block × sex' (avoidance responses:  $F(2, 116) = 14.86, p = 0.000$ ; escape latencies:  $F(2, 116) = 19.00, p = 0.001$ ), 'session × sex' (avoidance responses:  $F(4, 232) = 2.91, p = 0.043$ ; escape latencies:  $F(4, 232) = 6.23, p = 0.001$ ), and 'block × session × sex' interactions (avoidance responses:  $F(8, 464) = 3.59, p = 0.002$ ; escape latencies:  $F(8, 464) = 2.26, p = 0.003$ ; Fig. 1A,B) revealed that overall female rats showed increased avoidance responses and diminished escape

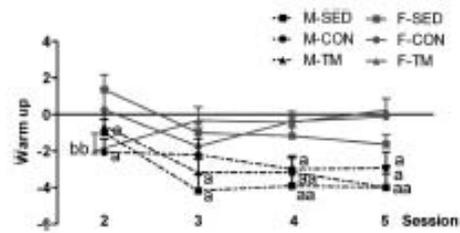


**Figure 1.** Mean  $\pm$  SEM of avoidance responses and escape latencies in the shuttle-box over three 10-trial blocks of sessions 1–5 for sedentary (SED), control (CON) and treadmill trained (TM) male (M) and female (F) rats. <sup>a</sup> $p < 0.05$ , <sup>ab</sup> $p < 0.01$  and <sup>abc</sup> $p < 0.001$  vs. the corresponding female group (same intervention type); <sup>b</sup> $p < 0.05$ , <sup>bb</sup> $p < 0.01$  and <sup>bbb</sup> $p < 0.001$  vs. the corresponding SED group (same sex, after decomposition of significant interactions).

latencies than male rats. In fact, the F-TM group showed the best initial performance as indicated by the scores of 7 avoidance responses and mean escape latency shorter than 5 sec that they showed in the third 10-trial block of session 1. From session 2 onwards, the effect of treadmill training in the F-TM group was abolished (Fig. 1A,B).

The repeated measures analysis over blocks and sessions also revealed a significant 'block  $\times$  session  $\times$  exercise' interaction for avoidance responses ( $F(16, 464) = 2.98$ ,  $p = 0.001$ ; Fig. 1A), attributable to a higher number of avoidance responses in M-TM rats in comparison to M-SED rats during the first block of session 2, and during the second block of sessions 4 and 5 (Fig. 1A). With regard to escape latencies, the significant 'block  $\times$  session  $\times$  exercise' ( $F(16, 464) = 2.53$ ,  $p = 0.002$ ) and 'block  $\times$  session  $\times$  sex  $\times$  exercise' interactions ( $F(16, 464) = 1.75$ ,  $p = 0.046$ ; Fig. 1B) revealed that: i) the F-TM group performed shorter escape latencies than the F-SED group in the third 10-trial block of session 1 ( $p = 0.001$ ), whereas that difference was not observed among the corresponding M-TM and M-SED groups; ii) the F-TM group responded with escape latencies below 6 s from the first block of session 3 and stabilized around 4 s over the second and third block of that session, whereas the other groups required more trials to stabilize escape latencies over blocks and/or sessions; iii) conversely, the M-TM group showed shorter escape latencies than the M-SED group in blocks 1 ( $p = 0.009$ ), 2 ( $p = 0.013$ ) of session 2, block 2 ( $p = 0.039$ ) of session 3, and blocks 2–3 of sessions 4 ( $p = 0.024$  and  $p = 0.007$ ) and 5 ( $p = 0.043$  and  $p = 0.008$ ); iv) both the M-SED and M-CON groups showed longer escape latencies than the M-TM group.

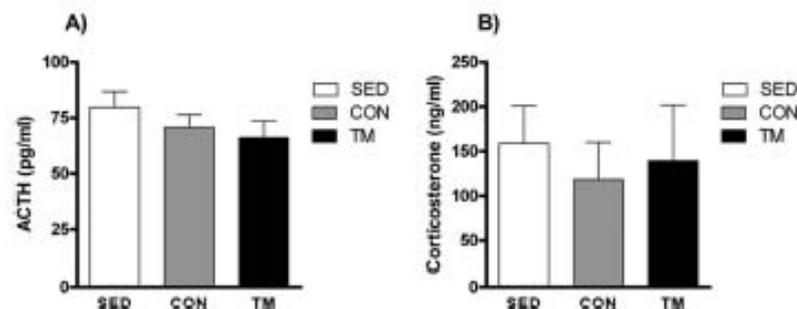
As for the warm up process, a closer inspection of Fig. 2 indicates that the warm up scores were overall higher in male than female rats (sex:  $F(1, 58) = 22.03$ ,  $p = 0.001$ ). The warm up scores changed significantly from session 2 to session 3 and then stabilized in a difference of 0–2 avoidance responses in female rats and 3–4 avoidance responses in male rats ('session  $\times$  sex':  $F(3, 174) = 2.96$ ,  $p = 0.003$ ). Moreover, the progression of the warm up scores between the F-TM and M-TM groups and their respective SED and CON groups was significantly different ('session  $\times$  sex  $\times$  exercise':  $F(6, 174) = 3.094$ ,  $p = 0.007$ ). Precisely, in female rats the F-TM group performed 8 avoidance responses during the last block of session 1, 5.6 avoidances in the first block of session 2, and then stabilized around a warm up score of 0. The F-CON group reached a warm up score of 0 in session 5, whereas the F-SED group showed a negative warm up score of  $-2$  in session 5. Conversely, all groups of male rats increased negative warm up scores from session 2 onwards and stabilized around a  $-4$  score.



**Figure 2.** Mean  $\pm$  SEM of warm up scores for sedentary (SED), control (CON) and treadmill trained (TM) male (M) and female (F) rats. Warm up index indicates the drop-off in avoidance behaviour from one session to the next. Warm up was less pronounced in female rats compared with male rats. <sup>a</sup> $p < 0.05$  and <sup>aa</sup> $p < 0.01$  vs. the corresponding female group (same intervention type); <sup>bb</sup> $p < 0.01$  vs. the corresponding SED group (same sex, after decomposition of significant interactions).

	Group	Session 1	Session 2	Session 3	Session 4	Session 5
Females	SED	7.82 $\pm$ 1.600	13.36 $\pm$ 3.571	10.27 $\pm$ 3.534	9.73 $\pm$ 2.680	6.00 $\pm$ 1.495
	CON	9.00 $\pm$ 1.822	9.88 $\pm$ 2.806	9.50 $\pm$ 4.314	8.75 $\pm$ 2.498	7.38 $\pm$ 1.700
	TM	6.11 $\pm$ 0.82	17.89 $\pm$ 3.98	21.78 $\pm$ 4.76	12.78 $\pm$ 3.38	11.78 $\pm$ 3.36
Males	SED	1.36 $\pm$ 0.24 <sup>aaa</sup>	4.82 $\pm$ 1.10	4.64 $\pm$ 1.42	4.82 $\pm$ 1.81	3.36 $\pm$ 1.18
	CON	3.86 $\pm$ 0.69	5.14 $\pm$ 1.08	6.07 $\pm$ 1.47	4.36 $\pm$ 1.25	7.79 $\pm$ 2.74
	TM	5.27 $\pm$ 2.90	8.27 $\pm$ 3.84	7.82 $\pm$ 2.39	6.18 $\pm$ 1.58	6.64 $\pm$ 1.90

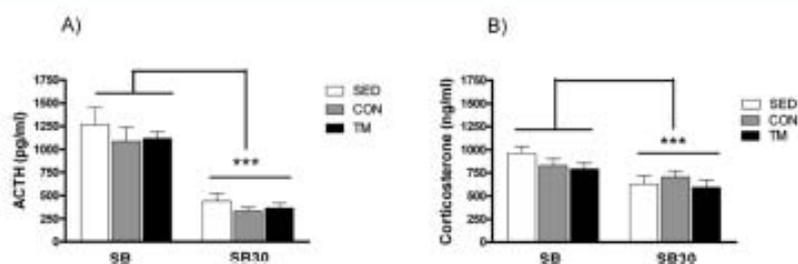
**Table 2.** Inter trial crossings performed during the active avoidance sessions (mean  $\pm$  SEM). SED, sedentary; CON, control; TM, treadmill group (n = 8–14 per group). <sup>aaa</sup> $p < 0.001$  vs. F-SED group.



**Figure 3.** Morning levels of ACTH (A) and corticosterone (B) in sedentary (SED), control (CON) and treadmill (TM) female rats under resting conditions did not differ (n = 8–10/group).

The number of inter trial crossings performed over sessions 1–5 are shown in Table 2. Overall, the number of inter trial crossings during task acquisition changed over the sessions ( $F(4, 232) = 3.991$ ,  $p = 0.004$ ), but no significant session  $\times$  sex ( $F(4, 232) = 1.103$ ,  $p = 0.461$ ), session  $\times$  exercise ( $F(8, 232) = 1.745$ ,  $p = 0.107$ ) and session  $\times$  sex  $\times$  exercise interactions ( $F(8, 232) = 1.154$ ,  $p = 0.328$ ) appeared in the two-way ANOVA analysis for repeated measures. However, significant sex differences emerged in the analysis ( $F(1, 58) = 20.019$ ,  $p = 0.001$ ), indicating that female rats performed more inter trial crossings than male rats. Treadmill training showed an overall tendency to increase inter trial crossings ( $F(2, 58) = 2.523$ ,  $p = 0.089$ ).

**Hormonal response.** The analysis of morning hormones showed no differences among female groups for ACTH ( $F(2, 27) = 1.054$ , ns; Fig. 3A) or corticosterone ( $F(2, 27) = 0.166$ , ns; Fig. 3B) plasma levels



**Figure 4.** Lower ACTH (A) and corticosterone (B) levels were found 30 min after shuttle-box acquisition termination (SB30) in all female rats compared with the hormone levels immediately after the shuttle-box session. Means  $\pm$  SEM are shown. \*\*\* $p < 0.05$  (overall time effect).

under resting conditions. 30 min after shuttle-box performance, ACTH ( $F(1, 25) = 135.28$ ;  $p = 0.001$ ; Fig. 4A) and corticosterone ( $F(2, 25) = 17.63$ ;  $p = 0.001$ ; Fig. 4B) plasma levels were lower in comparison to plasma levels measured immediately after shuttle-box acquisition. There were no group differences for ACTH and corticosterone plasma levels immediately after shuttle-box acquisition ( $F(2, 27) < 1.660$ , ns) or after 30 min of recovery ( $F(2, 27) < 0.771$ , ns).

### Discussion

Evidence from human studies indicates that exercise might be an effective intervention for anxiety disorders<sup>9</sup>. Here we showed that treadmill exercise improved active avoidance performance in a conditioned animal model of anxiety. The exercise benefit is sex-specific, according to the pattern of performance shown by male and female rats. We also showed sex differences on shuttle-box performance, female rats acquiring active avoidance behaviour faster and earlier than did male rats. They reached higher levels of performance than male rats as indicated by shorter escape latencies, higher number of avoidance responses, fewer trials needed to reach the performance/learning criterion of eight consecutive avoidances and lower warm up scores.

To our knowledge, the current results demonstrate for the first time that long-term moderate treadmill exercise improved two-way active avoidance behaviour in both male and female rats, thus resulting in better conflict coping strategy. Such an observation is in keeping with previous studies showing reduced anxiety-like behaviour in unconditioned tests of anxiety<sup>13,14,23,24</sup> and reduced ACTH response to mild and severe stressors following treadmill exercise<sup>17</sup>, but is in disagreement with another study showing lack of treadmill effects on fear conditioning or escape-learning deficit produced by uncontrollable stress<sup>25</sup>. The apparent discrepancies on shuttle-box performance suggest that the effects of treadmill exercise may vary as a function of the protocol of exercise used (ours, low intensity and chronic exposure vs. higher intensity and shorter exposure in the later<sup>25</sup>), but subtle differences regarding elicitation of fear versus anxiety among the various situations could contribute to the discrepancies.

The effects of treadmill exercise appeared at different time points, during acquisition in female rats, and later on, from session 2 onwards in male rats. F-TM rats improved avoidance responses and escape latencies, and reached criterion for performance in the third block of session 1. M-TM rats improved the total number of avoidance responses in session 3 ( $24.64 \pm 0.92$ , see Supplemental Table 1), maintained a similar performance in sessions 4–5, and diminished the rate of escape latencies throughout the shuttle-box testing period (see Fig. 1B). This effect is unlikely to be due to increased levels of motor activity induced by treadmill exercise, as F-TM rats did not show higher number of crossings than F-CON or F-SED rats during habituation or in the inter-trials in session 1. Similarly, in M-TM rats the numbers of crossings were not higher than M-CON or M-SED rats from session 2 onwards. It appears that in male rats, treadmill exercise may have diminished behavioural inhibition, thus promoting increased activity and facilitating active avoidance performance. This is in line with a previous study showing that long-term wheel running exercise reduced conditioned freezing and reversed the escape deficit induced by uncontrollable foot shock<sup>18</sup>. However that hypothesis needs to be further evaluated, since moderate treadmill exercise did not affect anxiety-like behaviour in the hole board, the elevated plus maze or the open field tests<sup>17</sup>, thus suggesting that anti-anxiety benefits of treadmill exercise may appear in more demanding situations than the former unconditioned tests.

The improvement in avoidance behaviour and criterion for performance observed in F-TM rats during the first session of the two-way active avoidance in comparison to F-SED and F-CON groups was not observed in subsequent sessions, all female groups reaching 27–29 avoidance responses by the 4th session (see Supplemental Table 1). Nevertheless, it is likely that female rats were performing at ceiling, thereby masking possible differences between groups. Further experiments increasing the demands of the task may help explain this hypothesis. For instance, shorter inter-trial intervals (15 s vs. our 40 s), and/or a shorter time CS duration (5 s vs. our 10 s) have been previously shown to retard avoidance acquisition<sup>26</sup>.

It should be noted, however, that the high exposure to handling procedures in both CON and TM rats could underlie some of the benefits observed in the CON rats (see Fig. 1). Other studies have previously shown that exposure to handling improved shuttle-box learning acquisition and diminished anxiety-like behaviour<sup>36–39</sup>. In our study, CON and TM groups showed similar levels of performance (>4.5 avoidance responses) during the third block of session 1 in comparison with the sedentary group (<3 avoidance responses; see Fig. 1A,B), who showed the slowest rates of acquisition.

Alongside the TM effects on shuttle-box performance, treadmill exercise did not modify the body weight, a result which is consistent with some studies<sup>34,40</sup>, but not others<sup>41</sup>. Collectively, it is possible that different types of activity promote different health outcomes<sup>3</sup>, which may explain the lack of changes in body weight following our treadmill training (i.e. moderate intensity, 150 min/week), but not others (i.e. higher intensity of training or duration<sup>41,42</sup>). Additionally, TM female rats slightly gained more weight than CON female rats, suggesting that exercise may increase muscle mass, as others have found for muscle weight to body weight relation mass<sup>43</sup> and/or by an increase in bone mass<sup>44</sup>.

In regard to basal HPA hormones, the analysis showed that TM female rats did not differ from the SED and CON female groups in plasma ACTH and corticosterone levels, consistent with previous studies in our laboratory among the SED, CON and TM male groups<sup>17</sup>. Moreover, ACTH and corticosterone responses to shuttle-box acquisition were not modified in female treadmill trained rats. This finding is in disagreement with our previous study<sup>17</sup>, where treadmill trained male rats showed a reduced ACTH response after an escape-avoidance task performed in a shuttle box compared to SED and CON male rats. In that study, there were no differences in the number of avoidances or number of shocks received during acquisition among male groups, whereas in the current one, TM female rats were the only group that reached criterion for performance in session 1. The possibility that a more severe stress challenge than the two-way (shuttle-box) active-avoidance acquisition *per se* were needed to observe the benefits of exercise on HPA response to stress is unlikely, as the protective effects of exercise are better observed with lower intensity stressors and/or demanding tasks<sup>45</sup>. It is possible that female rats are more resistant than male rats to the beneficial effects of exercise on HPA responsiveness to stressors, in contrast to the behavioural consequences. There is evidence indicating that, female rodents tolerate higher intensities of forced exercise and are more active in the voluntary wheel running than male rodents<sup>46,47</sup>. In the current experiment all animals were trained at 12 m/min, 30 min/day, 5 days/week, which is considered as moderate exercise intensity (60–70% max.VO<sub>2</sub>), comparable to a brisk walking pace<sup>14,48</sup>. Thus, the present results do not allow to rule out that higher exercise 'doses' were needed for female rats to reduce HPA response to stress.

A second new finding of the current experiment regarding sex differences is that female rats showed less warm up than males. This is consistent with other studies showing greater acquisition of escape/avoidance behaviour in animals with less warm up scores. For instance, warm up is highly involved in the psychogenetically selection of Roman High Avoidance/Verh (RHA/Verh) and Roman Low Avoidance (RLA/Verh) rat strains for good vs. poor shuttle-box avoidance performance, the RHA/Verh strain showing greater avoidance performance and less warm up scores than RLA/Verh<sup>49</sup>. Moreover, the Wistar-Kyoto rats showed lower warm up scores and increased avoidance performance than Sprague-Dawley rats in an escape/avoidance paradigm using lever-presses<sup>50</sup>. Additionally, ovariectomized and testosterone-treated female rats showed higher warm up scores and poor active avoidance performance in the shuttle-box than the corresponding control groups<sup>50</sup>.

The observed sex differences in the avoidance behaviour are in agreement with other studies showing that female rats generally perform better than male rats in paradigms of active avoidance, whereas male rats outperform female rats in others tests such as the classical fear-conditioning paradigm (see<sup>23</sup> and<sup>51</sup> for a review). Differences in basal levels of activity<sup>50–52</sup> and emotionality<sup>53</sup>, or the influence of the oestrous cycle<sup>51</sup> may explain the superior active avoidance acquisition herein revealed. More active animals usually learn to actively avoid the unconditioned foot shock stimulus earlier than less active animals<sup>51,52</sup>. In the current study, and consistently with others<sup>51,52</sup>, female rats learned faster and were also more active than male rats as measured by the number of crossings during the habituation. Intriguingly, female rats also performed more inter trial crossings than male rats during the two-way active avoidance acquisition (session 1), supporting that females' behaviour is predominantly influenced by activity<sup>54</sup>. In regard with emotionality, others have shown that: 1) male rats usually display higher levels of emotionality than female rats in other tests measuring anxiety-like behaviour<sup>55</sup>; and 2) high emotionality (i.e. freezing behaviour) negatively correlated with two-way avoidance performance<sup>55</sup>. It is possible that under stressful events, male rats show a passive avoidance tendency that interferes with active avoidance acquisition, whereas female rats may display more active escape strategies<sup>50,56</sup>. For instance, previous exposition to inescapable stress also disrupted shuttle-box performance in male, but not female, rats<sup>56</sup>. This hypothesis needs to be further explored, as there were no sex differences on a lever-press escape/avoidance task in Wistar-Kyoto (WKY) rats<sup>57</sup>, which show high stress sensitivity but better active avoidance performance than Sprague-Dawley rats<sup>51</sup>. Finally, the oestrous cycle can influence escape/avoidance behaviour in the shuttle-box<sup>51,58</sup>, and the fact that the stage of the oestrous cycle was not herein measured could be a potential confounding factor masking the sex differences in shuttle-box performance. Nevertheless, the overall performance within female groups was fairly homogeneous and the rates of avoidance responses are consistent with previous literature. Additionally, gonadectomy in adulthood did not modify the active

avoidance (shuttle-box) behaviour of either sex<sup>50,59</sup>, which altogether suggests that the influence of the stage of the oestrous cycle may have been relatively small.

In conclusion, long-term moderate treadmill exercise has an important impact in adulthood. Treadmill exercise, but no treadmill handling, diminished the number of trials needed to achieve the criterion for performance and improved avoidance responding in both adult male and female rats. The effects appeared during session 1 in female rats and from session 2 onwards in male rats. Altogether, moderate treadmill exercise resulted in diminished anxiety-like behaviour and more effective coping strategies. These findings are of relevance for human mental health, and may reinforce the therapeutic use of moderate exercise for improving coping strategies in the treatment of anxiety-like disorders.

## Methods

**Animals.** Male and female ( $n=37$  and  $29$  respectively, 12–14 weeks of age) Sprague-Dawley rats were obtained from the *Servet d'Estabulari, Universitat Autònoma de Barcelona*. They were housed 2 per cage in standard macrolon cages (40 cm in length  $\times$  23 cm in width  $\times$  18 cm in depth) and maintained under 12 h/12 h light/dark cycle (lights on 0800 h) in standard conditions of temperature ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ) and humidity ( $50 \pm 10\%$ ), with free access to food and water. Animals of each sex were randomly assigned to three groups, balancing the total body weight before starting the training sessions: sedentary male (M-SED,  $n=8$ ,  $517.5 \pm 12.0$  g), control male (M-CON,  $n=8$ ,  $545.2 \pm 9.3$  g), treadmill male (M-TM,  $n=11$ ,  $549.9 \pm 12.2$  g), sedentary-female (F-SED,  $n=11$ ,  $329.5 \pm 6.1$  g), control female (F-CON,  $n=8$ ,  $312.2 \pm 6.7$  g) and treadmill female (F-TM,  $n=9$ ,  $321.1 \pm 4.8$  g). The experimental protocol was approved by the Ethics Committee of the *Universitat Autònoma de Barcelona*, and was carried out following the 'Principles of laboratory animal care' in accordance with the European Communities Council Directive (86/609/EEC). Body weight (g) was recorded weekly until the end of the experiment. Body weight gain was calculated as the difference between the body weight measured at the last week of training and the body weight prior to the onset of treadmill training (Table 1).

**Treadmill training.** The treadmill apparatus consisted of 3 parallel runways (Exer 3/6, Columbus Instruments). The training phases were based on procedures described elsewhere<sup>17</sup>. Briefly, at 14-weeks of age, rats were habituated to the treadmill apparatus (0 m/min) in a single 30-min session. The following day, the intensity of the exercise was gradually increased until it reached a speed of 12 metres/minute (m/min). Animals were trained in 30-min sessions, 4–5 days/week, between 9.00 h and 14.00 h, for 32 weeks.

**Shuttle Box (SB).** Each shuttle box (Panlab, S.L.) was divided into two equally sized compartments (25 cm  $\times$  25 cm  $\times$  25 cm), both sound-attenuated, connected by an opening door (8 cm wide and 10 cm high). The first session (acquisition phase, day 1) was preceded by a 5 min habituation period followed by five 30-trial sessions administered at 24-h intervals. Each trial consisted of 10 sec of conditioned stimulus (CS, light of 7 W and sound of 2400 Hz at 40 dB, presented simultaneously), immediately followed by a scrambled electric shock (unconditioned stimulus, UCS, 0.6 mA, 20 sec) administered through the metal grid floor of the box. Crossing from one side to the other compartment (active response) terminated the CS (i.e. avoidance response) or UCS presentation (i.e. escape response), and was followed by a 40-s pause (inter trial interval). Four more sessions were administered (days 2–5) with an identical procedure, with the exception of the habituation period that was not included in sessions 2–5. Shuttle-box sessions were administered 20–22 h apart. Main outcome variables were: habituation crossings, number of inter trial crossings per session (crossings made during the 40-s pause periods), the number of trials required to achieve criterion for performance (8 consecutive avoidances, "Criterion 8", adapted from<sup>19</sup>), the mean escape latency (latency to cross to the other compartment from the onset of CS presentation) and the total number of active avoidance responses (crossings in the presence of CS). To analyze the transition from escape to avoidance behaviour, the number of avoidance responses and the escape latencies during blocks of 10 trials were also recorded. We also analyzed the warm up process in sessions 2–5, which refers to starting a session at a lower performance level than was performed at the end of the previous session<sup>19,57</sup>. Warm up was calculated by the difference between the number of avoidances performed during the first 10-trial block of a session and the number of avoidances performed during the third 10-trial block of the previous session [warm up index session  $n = (\text{number of avoidances performed during trials } 1-10 \text{ of session } n) - (\text{number of avoidance performed during trials } 21-30 \text{ of session } n-1)$ ].

**Hormones.** Plasma levels of ACTH and corticosterone were measured under resting conditions (morning: 9–10 am) and after the shuttle box acquisition (session 1, immediately after and 30 min after its termination). Samples were taken by tail-nick. It consisted of gently wrapping the animals with a cloth, making a 2 mm incision at the end of the tail vein and then massaging the tail while collecting, within 2 min, 300  $\mu\text{l}$  of blood into ice-cold EDTA capillary tubes (Sarsted, Granollers, Spain). The two cage-mated animals were sampled simultaneously by two experimenters, in a room different from the colony room and the testing room.

Basal samples were taken five days before SB acquisition, on a day when treadmill training was not administered to prevent possible interferences with hormonal data.

**Radioimmunoassays.** Plasma ACTH and corticosterone were determined by double-antibody RIAs. The ACTH RIA used 125I-tyrosyl-ACTH (Amersham-Pharmacia Biotech, Cerdanyola del Vallès, Spain) as the tracer, rat synthetic ACTH (Sigma) as the standard and an antibody raised against rat ACTH kindly provided by Dr. W. Engelard (Dept. Surgery, Univ. Minnesota, Minneapolis, USA). The corticosterone RIA used 125I-corticosterone-carboxymethyloxime-tyrosine-methyl ester (ICN-Biotech 2000, Barcelona, Spain), synthetic corticosterone (Sigma) as the standard, and an antibody raised in rabbits against corticosterone-carboxymethyloxime-BSA kindly provided by Dr. G. Makara (Inst. Exp. Med., Budapest, Hungary). We followed the RIA protocol recommended by Dr. G. Makara (plasma corticosteroid-binding globulin was inactivated by low pH). All samples to be compared were processed in the same assay.

**Statistical Analysis.** The statistical analysis was performed using the 'Statistical Package for Social Sciences' (SPSS, version 18.0). Body weight gain, body weight at the beginning of the shuttle-box experiment (initial body weight included in the analysis as a covariant), number of crossings during habituation period, mean inter trial crossings, and criterion for performance (log transformed to obtain homogeneity of variances, though untransformed means are shown throughout) were analysed using a two-way analysis of variance (ANOVA) with exercise and sex as the between-subject factor, followed by Bonferroni *post hoc* tests for comparisons between groups. Those variables that did not obtain homogeneity of variance following arithmetic log transformation (total number of avoidance responses, mean escape latency) were analysed by non parametric Kruskal-Wallis followed by Mann Whitney U test for comparisons between pairs of groups. A two-way repeated measures ANOVA was used to compare performance over training across the number of avoidance responses and mean escape latencies over 10-trial blocks as within-subject factors (10-trials block [3 per session] and session [5 sessions]), exercise intervention (sedentary, control and treadmill) and sex (male, female) as between-subject factors. Repeated measures ANOVA was also applied to analyze the warm up scores over sessions 2-5, with session as within-subject factors (4 sessions) and exercise intervention (sedentary, control and treadmill) and sex (male, female) as between-subject factors. When appropriate, subsequent decomposition of the interaction among factors was conducted. One-way ANOVA analysis was applied to ACTH and corticosterone morning plasma levels under resting conditions and repeated measures ANOVA in response to the SB acquisition [between-subjects factor: exercise intervention; within subjects factor: time immediately after (SB), or 30 min after its termination (SB30)] in female rats. All values are expressed as mean  $\pm$  standard error for the mean (SEM). Statistical significance was set at  $p < 0.05$  for all tests.

## References

- Haskell, W. L. et al. Physical activity and public health. Updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation* **116**, 1081–1093 (2007).
- Nelson, M. E. et al. Physical activity and public health in older adults recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation* **116**, 1094–1105 (2007).
- Powell, E. K., Paluch, A. E. & Blair, S. N. Physical activity for health: what kind? How much? How intense? On top of what? *Annu Rev Public Health* **32**, 349–365 (2011).
- O'Donovan, G. et al. The ABC of physical activity for health: a consensus statement from the British Association of Sport and Exercise Sciences. *J Sport Sci* **28**, 573–591 (2010).
- Archer, T. Physical exercise alleviates deficits of normal aging and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* **123**, 221–238 (2011).
- Cotman, C. W., Berchold, N. C. & Christie, L. A. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci* **30**, 464–472 (2007).
- Crimi, E., Ignarro, L. J., Cacciatore, F. & Napoli, C. Mechanisms by which exercise training benefits patients with heart failure. *Nat Rev Cardiol* **6**, 292–300 (2009).
- Hillman, C. H., Erickson, K. I. & Kramer, A. E. Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci* **9**, 58–64 (2008).
- Asmundson, G. J. et al. Let's get physical: a contemporary review of the anxiolytic effects of exercise for anxiety and its disorders. *Depress Anxiety* **30**, 362–373 (2013).
- Bourin, M., Petit-Demoulière, N., Dhonnchadhá, B. N. & Hascóët, M. Animal models of anxiety in mice. *Pharmacol Ther* **21**, 567–574 (2007).
- Satzer, T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues Clin Neurosci* **13**, 495–506 (2011).
- Burghardt, P. R., Fulk, L. J., Hand, G. A. & Wilson, M. A. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Behav Brain Res* **1019**, 84–96 (2004).
- Fulk, L. J., Stock, H. S., Lynn, A., Marshall, J., Wilson, M. A. & Hand, G. A. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *Int J Sports Med* **25**, 78–82 (2004).
- Pietrelli, A., Lopez-Costa, J., Goffi, R., Brusca, A. & Basso, N. Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience* **202**, 252–266 (2012).
- Mello, P. B., Benetti, E., Cammarota, M. & Izquierdo, I. Physical exercise can reverse the deficit in fear memory induced by maternal deprivation. *Neurobiol Learn Mem* **92**, 364–369 (2009).
- Dao, A. T., Zagar, M. A., Salm, S., Eriksen, J. L. & Alkadhi, K. A. Regular exercise prevents non-cognitive disturbances in a rat model of Alzheimer's disease. *Int J Neuropsychopharmacol* **17**, 593–602 (2014).
- Lalanza, J. E. et al. Physiological and behavioural consequences of long-term moderate treadmill exercise. *Psychoneuroendocrinology* **37**, 1745–1754 (2012).
- Greenwood, B. N., Strong, P. V., Dorsey, A. A. & Fleshner, M. Therapeutic effects of exercise: Wheel running reverses stress-induced interference with shuttle box escape. *Behav Neurosci* **121**, 992–1000 (2007).
- Escorihuela, R. M., Tobeta, A., Driscoll, P. & Fernández-Teruel, A. Effects of training, early handling, and perinatal flumazenil on shuttle box acquisition in Roman Low-Avoidance Rats - toward overcoming a genetic deficit. *Neurosci Biobehav Rev* **19**, 353–367 (1995).

20. Fernández-Teruel, A. *et al.* The early acquisition of two-way (shuttle-box) avoidance as an anxiety-mediated behaviour: psychopharmacological validation. *Brain Res Bull* **23**, 173–176 (1991).
21. Frunell, M., Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., Núñez, J. F. & Tobeta, A. Anxiolytic profiles of alprazolam and ethanol in the elevated plus-maze test and the early acquisition of shuttlebox avoidance. *Pharmacol Res* **29**, 37–46 (1994).
22. Cover, K. K., Maeng, L. Y., Lebrón-Milad, K. & Milad, M. R. Mechanisms of estradiol in fear circuitry: Implications for sex differences in psychopathology. *Transl Psychiatry* **4**, e422 (2014).
23. Davtu, N., Andero, R., Armario, A. & Nadal, R. Sex differences in the behavioural and hypothalamic–pituitary–adrenal response to contextual fear conditioning in rats. *Behav Brain Res* **66**, 713–723 (2014).
24. Jod, D. & Yankilevitch-Yahav, H. Reconceptualizing sex, brain and psychopathology: Interaction, interaction, interaction. *Br J Pharmacol* **171**, 4620–4635 (2014).
25. Kasienberger, I. & Schwarzer, C. GPER1 (GPR30) knockout mice display reduced anxiety and altered stress response in a sex and paradigm dependent manner. *Behav Brain Res* **66**, 628–636 (2014).
26. Kokras, N. & Dalla, C. Sex differences in animal models of psychiatric disorders. *Br J Pharmacol* **171**, 4505–4619 (2014).
27. Donner, N. C. & Lowry, C. A. Sex differences in anxiety and emotional behaviour. *Eur J Physiol* **465**, 601–626 (2013).
28. Sheynin, J. *et al.* Behaviourally inhibited temperament and female sex, two vulnerability factors for anxiety disorders, facilitate conditioned avoidance (also) in humans. *Behav Processes* **103**, 228–235 (2014).
29. Pigott, T. A. Gender differences in the epidemiology and treatment of anxiety disorders. *J Clin Psychiatry* **60** Suppl. 18, 4–15 (1999).
30. Pigott, T. A. Anxiety disorders in women. *Psychiatr Clin North Am* **26**, 621–672 (2003).
31. García-Capdevila, S., Portell-Cortés, I., Torres-García, M., Cull-Andreu, M. & Costa-Miserachs, D. Effects of long-term voluntary exercise on learning and memory processes: dependency of the task and level of exercise. *Behav Brain Res* **202**, 162–170 (2009).
32. O’Callaghan, R. M., Griffin, E. W. & Kelley, A. M. Long-term treadmill exposure protects against age-related neurodegenerative change in the rat hippocampus. *Hippocampus* **19**, 1019–1029 (2009).
33. Ahmadihpour, A. & Rashidy-Pour, A. Effects of treadmill running exercise during the adolescent period of life on behavioral deficits in juvenile rats induced by prenatal morphine exposure. *Physiol Behav* **139**, 26–33 (2015).
34. Salm, S., Sarraj, N., Taneja, M., Saha, K., Tejeda-Simon, M. V. & Chugh, G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res* **208**, 545–552 (2010).
35. Greenwood, B. N. *et al.* Exercise-induced stress resistance is independent of exercise controllability and the medial prefrontal cortex. *Eur J Neurosci* **37**, 469–478 (2013).
36. Núñez, J. F. *et al.* Postnatal handling reduces emotionality ratings and accelerates two-way active avoidance in female rats. *Physiol Behav* **57**, 831–835 (1995).
37. Botx, F., Fernández-Teruel, A., Escorihuela, R. M. & Tobeta, A. Handling-habituation prevents the effects of diazepam and alprazolam on brain serotonin levels in rats. *Behav Brain Res* **36**, 209–215 (1990).
38. Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., Núñez, J. F., Zapata, A. & Tobeta, A. Beneficial effects of infantile stimulation on coping (avoidance) behaviour in rats are prevented by perinatal blockade of benzodiazepine receptors with Ro 15-1788. *Neurosci Lett* **126**, 45–48 (1991).
39. Fernández-Teruel, A., Escorihuela, R. M., Botx, F. & Tobeta, A. Effects of different handling-stimulation procedures and benzodiazepines on two-way avoidance acquisition in rats. *Pharmacol Res* **24**, 273–282 (1991).
40. Hansalik, M., Skalický, M. & Vladić, A. Impairment of water maze behaviour with ageing is counteracted by maze learning earlier in life but not by physical exercise, food restriction or housing conditions. *Exp Gerontol* **41**, 169–174 (2006).
41. Chennanur, M., Mertins, D. G., Lesage, J., Drogou, C. & Guézennec, C. Y. Effects of moderate and intensive training on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in rats. *Acta Physiol Scand* **175**, 113–121 (2002).
42. Strasser, B. Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann NY Acad Sci* **128**, 141–159 (2013).
43. Behnke, B. J. *et al.* Effects of aging and exercise training on skeletal muscle blood flow and resistance artery morphology. *J Appl Physiol* **113**, 1699–708 (1985).
44. Iwamoto, J., Takoda, T. & Sato, Y. Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. *Exp Anim* **54**, 1–6 (2005).
45. Campeau, S. *et al.* Hypothalamic pituitary adrenal axis responses to low-intensity stressors are reduced after voluntary wheel running in rats. *J Neuroendocrinol* **22**, 872–888 (2010).
46. Devaud, L. L., Walls, S. A., McCulley, W. D. 3rd & Rosenwasser, A. M. Voluntary wheel running attenuates ethanol withdrawal-induced increases in seizure susceptibility in male and female rats. *Pharmacol Biochem Behav* **103**, 18–25 (2012).
47. Sanchez-Rotge, S. *et al.* Long-term wheel running changes on sensorimotor activity and skeletal muscle in male and female mice of accelerated senescence. *Age* **36**, 9697 (2014).
48. Costa, M. S. *et al.* Treadmill running frequency on anxiety and hippocampal adenosine receptors density in adult and middle-aged rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **36**, 198–204 (2012).
49. Servatius, R. J., Jiao, X., Beck, K. D., Pang, K. C. H. & Minor, T. B. Rapid avoidance acquisition in Wistar-Kyoto rats. *Behav Brain Res* **192**, 191–197 (2008).
50. Beatty, W. W. & Beatty, P. A. Hormonal determinants of sex differences in avoidance learning behaviour and reactivity to electric shock in the rat. *J Comp Physiol Psychol* **73**, 446–455 (1970).
51. Dalla, C. & Shors, T. J. Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning. *Physiol Behav* **97**, 229–238 (2009).
52. Denil, A. & Epstein, A. Sex differences in the acquisition of two kinds of avoidance behaviour in rats. *Physiol Behav* **8**, 611–615 (1972).
53. Gray, J. F. & Laljee, B. Sex differences in emotional behaviour in the rat: correlation between open-field defecation and active avoidance. *Anim Behav* **22**, 856–861 (1974).
54. López-Aumatell, R. *et al.* Effects of environmental and physiological covariates on sex differences in unconditioned and conditioned anxiety and fear in a large sample of genetically heterogeneous (N/Nih-115) rats. *Behav Brain Funct* **7**, 48 (2011).
55. Vicéns-Costa, E. *et al.* Two-way active avoidance acquisition is negatively related to conditioned freezing and positively associated with startle reactions: A dissection of anxiety and fear in genetically heterogeneous rats. *Physiol Behav* **103**, 148–156 (2011).
56. Stoenbergen, H. L., Helmsbroek, R. P., Van Hest, A. & Van de Poll, N. E. Sex-dependent effects of inescapable shock administration on shuttle box-escape performance and elevated plus-maze behaviour. *Physiol Behav* **48**, 571–576 (1990).
57. Beck, K. D., Jiao, X., Pang, K. C. H. & Servatius, R. J. Vulnerability factors in anxiety determined through differences in active-avoidance behaviour. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **34**, 850–860 (2010).
58. Frye, C. A., Bock, B. C. & Kanarek, R. B. Hormonal milieu affects tail flick latency in female rats and may be attenuated by access to sucrose. *Physiol Behav* **52**, 699–706 (1992).
59. Scouten, C. W., Groteleuschen, L. K. & Beatty, W. W. Androgens and the organization of sex differences in active avoidance behaviour in the rat. *J Comp Physiol Psychol* **88**, 264–270 (1975).

**Acknowledgements**

This study has been supported by Spanish grants from Ministerio de Economía y Competitividad to LC (PSI2011-29807-C02-01) and AA (SAF2011-28313); and from Instituto de Salud Carlos III (RD12/0028/0014, Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Salud, Ministerio de Sanidad y Consumo), and Generalitat de Catalunya (SGR2014-1020) to AA. JFL was supported by a pre-doctoral fellowship from the *Generalitat de Catalunya* (FI-DGR 2011). IC was supported by a pre-doctoral fellowship from Universidad Santo Tomás, Chile and a fellowship from CONICYT/BECA CHILE/PAI 72150035. SF was a recipient of a PTA-MICINN fellowship (PTA 2010-3472-I). We would like to thank Juan Ramón García Milla, Rafaela Gascón Palomar, Carlos Baldellou Estrada, Marta del Mar López González and all *Servet d'Estabulari* staff (UAB) for their help with animal care.

**Author Contributions**

Conceived and designed behavioural experiments R.M.E. Conceived and designed hormonal experiments A.A. Performed behavioural experiments J.F.L., S.S.-R. and I.C. Performed hormonal experiments S.F. and H.G. Analysed the data R.M.E. and J.F.L. Contributed materials and equipment: LCO. Wrote the manuscript: J.F.L., S.S.-R., A.A. and R.M.E. All authors reviewed the manuscript.

**Additional Information**

**Supplementary information** accompanies this paper at <http://www.nature.com/srep>

**Competing financial interests:** The authors declare no competing financial interests.

**How to cite this article:** Lalanza, J. F. *et al.* Long-term moderate treadmill exercise promotes stress-coping strategies in male and female rats. *Sci. Rep.* 5, 16166; doi: 10.1038/srep16166 (2015).

 This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

## Parte 1B:



## RESEARCH ARTICLE

# Treadmill Intervention Attenuates the Cafeteria Diet-Induced Impairment of Stress-Coping Strategies in Young Adult Female Rats

Igor Cigarroa<sup>1,2</sup>, Jaume F. Lalanza<sup>1</sup>, Antoni Cairnarí<sup>3</sup>, Josep M. del Bas<sup>3</sup>,  
Lluís Capdevila<sup>4</sup>, Lluís Arola<sup>5,6</sup>, Rosa M. Escorihuela<sup>1\*</sup>



**1** Institut de Neurociències, Departament de Psiquiatria i Medicina Legal, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, **2** Carrera de Kinesiologia, Facultad de Salud, Universidad Santo Tomás, Los Angeles, región del Bio-Bio, Chile, **3** Grup de Recerca en Nutrició i Salut (GRNS), Centre Tecnològic de Nutrició i Salut (CTNS), TECNIO, CEICS, Reus, Spain, **4** Laboratori de Psicologia de l'Esport, Departament de Psicologia Bàsica, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain, **5** Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Nutrigenomics Research Group, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain, **6** Centre Tecnològic de Nutrició i Salut (CTNS), TECNIO, CEICS, Reus, Spain

\* [rosamaria\\_escorihuela@uab.cat](mailto:rosamaria_escorihuela@uab.cat)

## OPEN ACCESS

**Citation:** Cigarroa I, Lalanza JF, Cairnarí A, del Bas JM, Capdevila L, Arola L, et al. (2016) Treadmill Intervention Attenuates the Cafeteria Diet-Induced Impairment of Stress-Coping Strategies in Young Adult Female Rats. *PLoS ONE* 11(4): e0153687. doi:10.1371/journal.pone.0153687

**Editor:** Guillermo López Lluich, Universidad Pablo de Olavide, Centro Andaluz de Biología del Desarrollo- CSIC, SPAIN

**Received:** February 1, 2016

**Accepted:** April 3, 2016

**Published:** April 21, 2016

**Copyright:** © 2016 Cigarroa et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper.

**Funding:** The research leading to these results has received funding from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (PSI 2011-29807-C02/PSIC), ACCIO (TECRD11-1-0012 and TEGRD12-1-0008) and the European Union's Seventh Framework Programme FP7 2007-2013 under grant agreement n° 244995 (BIOCLAMS Project). JFL was supported by a pre-doctoral fellowship from the Generalitat de Catalunya (FI-DGR).

## Abstract

The current prevalence of diet-induced overweight and obesity in adolescents and adults is continuously growing. Although the detrimental biochemical and metabolic consequences of obesity are widely studied, its impact on stress-coping behavior and its interaction with specific exercise doses (in terms of intensity, duration and frequency) need further investigation. To this aim, we fed adolescent rats either an obesogenic diet (cafeteria diet, CAF) or standard chow (ST). Each group was subdivided into four subgroups according to the type of treadmill intervention as follows: a sedentary group receiving no manipulation; a control group exposed to a stationary treadmill; a low-intensity treadmill group trained at 12 m/min; and a higher intensity treadmill group trained at 17 m/min. Both the diet and treadmill interventions started at weaning and lasted for 8 weeks. Subjects were tested for anxiety-like behavior in the open field test and for coping strategies in the two-way active avoidance paradigm at week 7 and were sacrificed at week 8 for biometric and metabolic characterization. CAF feeding increased the weight gain, relative retroperitoneal white adipose tissue (RWAT %), and plasma levels of glucose, insulin, triglycerides and leptin and decreased the insulin sensitivity. Treadmill intervention partially reversed the RWAT% and triglyceride alterations; at higher intensity, it decreased the leptin levels of CAF-fed animals. CAF feeding decreased the motor activity and impaired the performance in a two-way active avoidance assessment. Treadmill intervention reduced defecation in the shuttle box, suggesting diminished anxiety. CAF feeding combined with treadmill training at 17 m/min increased the time spent in the center of the open field and more importantly, partially reversed the two-way active avoidance deficit. In conclusion, this study demonstrates that at doses that decreased anxiety-like behavior, treadmill exercise partially improved the coping strategy in

2011). IC was supported by a pre-doctoral fellowship from Universidad Santo Tomás, Chile and a fellowship from CONICYT/BECA CHILEPA/72150035. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

terms of active avoidance behavior in the CAF-fed animals. This effect was not observed at lower doses of treadmill training.

## Introduction

The current prevalence of overweight and obesity has reached epidemic levels in adolescents [1], and it is over 30% in adults [2]. In addition to affecting metabolic and cardiovascular disorders, obesity is increasingly associated with psychological and psychiatric disorders [3–5]. Obesity has been connected to anxiety, depression and bipolar disorders [4,6]. Moreover, anxiety, stress and emotional instability have been demonstrated to alter food consumption and eating behavior, thus contributing to overweight and obesity at all ages [5].

Among the different animal models developed to investigate obesity disorders [7,8], the palatable cafeteria (CAF) diet is a diet-induced obesity (DIO) model in which rodents are offered the highly palatable and energy dense foods regularly consumed by humans with concurrent free access to standard chow (ST) and water [9]. The CAF diet promotes voluntary hyperphagia [10] and weight gain, increases fat mass, alters the circulating levels of glucose and insulin [11,12], and induces liver and adipose tissue inflammation [9]. Regarding environmental and psychological factors, this obesogenic diet increases the hedonic properties of the 'wanted' food and the motivation to consume this food [13] and alters eating behavior [14], thus providing a robust rodent model of the metabolic and behavioral processes underlying diet-induced human obesity [9,15] and metabolic syndrome [16].

Palatable food consumption has decreased anxiety and the stress response in rodents [17,18], and different studies have reported diminished anxiety-like behavior in rats that preferred a palatable high-fat diet [19], in the offspring of CAF-fed dams [20], in CAF-fed rats previously subjected to maternal separation [21], and in late adolescent and adult rats fed a palatable diet [12,22]. However, all the above studies evaluated the anxiety-like behavior by using unconditioned and/or ethological models. Among the two main categories for measuring behavioral anxiety in rodents (i.e., unconditioned vs conditioned response tests), the unconditioned tests evaluate coping strategies under novel threatening conditions (i.e., environments) that approximate to the natural open or unprotected spaces shown to elicit anxiety [23,24]. In those conditions, the inappropriate levels of risk assessment activity induced by a threatening environment would be analogous to some human anxiety symptoms of phobic tendencies, hypervigilance, scanning and excessive worries [25]. In contrast, the conditioned response tests evaluate coping strategies by pairing a neutral stimulus with a threatening stimulus (electric shock) to promote specific avoidance/escape or defensive behavioral responses (i.e., active or passive) to escape or avoid the shock [26]. The present study goes further and evaluates the performance of DIO rats in a conditioned response test, the two-way (shuttle-box) active avoidance test, which is based on a conflict situation that involves two opposing (passive vs active) responses.

Exercise prevented overweight in rats fed standard [27] and high-fat diets [28]. Exercise also normalized insulin sensitivity in obese rats [29], improved vascular function and ameliorated high-fat diet-induced metabolic dysfunction, including abdominal fat content, systemic inflammatory cytokine levels, glucose tolerance and insulin resistance [30–32]; these effects were in addition to the increase in the mRNA expression and protein levels markers related to synaptic plasticity and cognitive function [33]. More recent evidence based on rodents and humans studies supports a bi-directional relationship between obesity and anxiety, depressive

or bipolar disorders; thus, effective weight-loss interventions might contribute to improved psychological health [4]. For example, in rodents, treadmill exercise reduced anxiety-like behavior in the elevated plus-maze and open field unconditioned tests [34,35], improved the coping strategies in the two-way active avoidance conditioned paradigm [36] and reduced the hormonal response to acute stress [37]. Overall, exercise practice seems to decrease anxiety-like behavior when administered under certain protocol conditions.

On the basis of the above studies, the aims of the present study were to evaluate the following: 1) the effects of CAF diet-induced obesity on the two-way active avoidance conditioned response and 2) whether two different treadmill running procedures (i.e., low and higher intensity) combined with the CAF diet could modify the behavior of young adult female rats in the open field test and the two-way (shuttle-box) active avoidance performance. Furthermore, the effects of treadmill running on food consumption, nutrient and energy intake, and biometric and metabolic plasma parameters, including leptin levels, were also evaluated in ST- and CAF-fed rats.

The main advantages of our model over other models of exercise are the following: a) with a treadmill model, the experimenter can adjust the duration and intensity of exercise and hence control for the heterogeneity reported in other models (e.g., voluntary exercise training [38]) and b) with two control groups, a sedentary group (SED) receiving no manipulation and a control group (CON) exposed to a stationary treadmill under the same conditions as for the treadmill (TM) group, the influence of other variables, such as daily handling and mere exposure to the treadmill apparatus, can be detected [37,39]. To our knowledge, no previous studies have examined the intersection between exercise and palatable CAF feeding on conditioned anxiety test results in a well-controlled animal model.

## Materials and Methods

### Ethics statement

The experimental protocol was approved by the *Generalitat de Catalunya (DAAM 6836)*, following the 'Principles of laboratory animal care', and was carried out in accordance to the European Communities Council Directive (86/609/EEC).

### Animals and housing conditions

The animals were female Sprague-Dawley rats bred and raised at the main animal facility of the Universitat Autònoma de Barcelona. They were weaned at 21–23 days of age, housed with 2 animals per cage (same experimental group) in standard macrolon cages (40 cm in length x 23 cm in width x 18 cm in depth), fed with *ad libitum* access to the corresponding diet (see below) and maintained in conditions of standard temperature ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ) and humidity ( $50 \pm 10\%$ ) with a 12 h-12 h light-dark cycle (lights on at 08:00 h). Animals were randomly assigned to eight groups with comparable total body weights before the beginning of the treadmill intervention: sedentary-standard diet (SED-ST), sedentary-cafeteria diet (SED-CAF), control-standard diet (CON-ST), control-cafeteria diet (CON-CAF), treadmill-low intensity-standard diet (TML-ST), treadmill-low intensity-cafeteria diet (TML-CAF), treadmill-higher intensity-standard diet (TMH-ST), and treadmill-higher intensity-cafeteria diet (TMH-CAF).

### Cafeteria diet

Beginning at weaning (at day 21 of life) and for a duration of 8 weeks, the rats were fed either standard chow (ST; Harland 5,2) or a cafeteria diet (CAF) with the following components (quantity per rat): bacon or frankfurter (8–12 g), biscuit with pâté (12–15 g), biscuit with

cheese (10–12 g), muffins or ensaimada (pastry) (8–10 g), carrots (6–8 g), milk with sugar (220 g/l; 50 ml), water (*ad libitum*), and ST chow. The ST chow had a calorie breakdown of 24% protein, 18% fat and 58% carbohydrates, whereas the calorie breakdown of the CAF diet was: 10% proteins; 41% fat; and 49% carbohydrates. The animals were fed *ad libitum*, the food was renewed daily [12], and the amounts of each component that were eaten were determined twice weekly. The amounts consumed were the differences between the weight of the fluids and foods allocated to a cage and those remaining 24 hr after. We assumed that the two animals of the same cage consumed half of the difference [40].

### Treadmill intervention

We included two exercise groups of low and higher intensities (12 m/min and 17 m/min, respectively). The treadmill consisted of three parallel runways (45 cm x 11 cm x 12 cm, Columbus Instruments, USA) without inclination. The procedure was similar to the one described in Lalanza et al. [37]. Briefly, training sessions started after weaning and continued for 8 weeks. They were conducted 4–5 days per week in the colony room and lasted 30 min. On the first day, the subjects were habituated to the treadmill for 30 min (0 m/min). On the next day, training began gently, and the intensity of the treadmill speed was gradually increased until it reached a maximum intensity of 12 m/min (TML groups) or 17 m/min (TMH groups); these speeds were maintained until the end of the experiment. Neither electrical shock nor physical prodding was used to motivate the animals. The control (CON) rats stayed on a stationary treadmill (0 m/min) for the same number of sessions and the same amount of time as the TML and TMH rats. The sedentary (SED) rats remained in their cages. All rats were weighed weekly.

### Behavioral experiments

Behavioral experiments were carried out during the 7<sup>th</sup> week of diet administration, when the animals were 10 weeks of age. Treadmill training was interrupted during behavioral testing. All experiments were carried out in an isolated experimental room with dim lighting. Animals were tested for locomotion and activity in an open field (OF) and for two-way active avoidance learning in a shuttle box (SB). The apparatus was cleaned with a 20% ethanol solution after each rat.

**Open field.** The open field experiment was carried out in the morning (between 9:00 am and 16:00 pm) in a beige plywood arena (diameter 83 cm) surrounded by a white plywood wall (height 34 cm). The rats were individually housed in a cage with clean sawdust for 30 minutes before being placed in the open field. Then, the animals were individually placed in the center of the arena and allowed to explore the apparatus for 30 min. The total distance travelled and the time spent in the central area were recorded using a HD camera (JVC) and then measured and analyzed using video tracking software (ANY-Maze, San Diego Instruments).

**Shuttle box (SB).** The shuttle-box apparatus (Panlab, S.L.) was divided into two equally sized compartments (25 cm x 25 cm x 25 cm) connected by an opening door (8 cm wide and 10 cm high). Animals were placed in the shuttle box for a habituation period of 10 min before the start of the 40-trial session. Each trial consisted of 10 s of simultaneous presentation of a light (7 W, 10 s) and a tone (2400 Hz at 40 dB) as a conditioned stimulus (CS); the stimulus was immediately followed by a scrambled electric shock (0.6 mA, 20 s), which was administered through the metal grid floor of the box (unconditioned stimulus, US). The animal had to learn to change between the two compartments of the shuttle box (separated by an open door) to escape or avoid the shock. The CS or US was terminated when the animal crossed to the other compartment; crossings that occurred during the CS, and thus before the US onset, were

considered an avoidance response. Once a crossing had been made and/or the shock discontinued, an inter-trial interval (ITI; 40 s) was presented. Escape latencies, the number of avoidance responses, defecations and the number of crossings made during the habituation period and during inter-trial intervals were scored.

### Physiological and metabolic variables

Body weight was monitored weekly over 8 weeks. Food was withdrawn 12–14 h before sacrifice. Animals were sacrificed by beheading, and the total blood was collected. Serum was obtained by centrifugation at 4°C and 2000 g for 15 minutes and stored at -80°C until further use. The retroperitoneal white adipose tissue (RWAT) and liver were dissected and weighed. The relative liver weight and relative RWAT weight were calculated following the formula ( $100 \times \text{tissue weight/body weight}$ ) and were thus expressed as a percentage of the total body weight.

**Plasma analysis.** Enzymatic colorimetric kits were used for the determination of serum glucose, triglyceride, cholesterol (QCA, Barcelona, Spain) and non-esterified free fatty acid (NEFA) (WAKO, Neuss, Germany) levels. The serum insulin and leptin levels were measured using a mouse/rat insulin ELISA kit and a rat leptin ELISA kit, respectively, (Millipore, Barcelona, Spain) following the manufacturer's instructions.

**R-QUICKI analysis.** The insulin sensitivity was assessed by the revised quantitative insulin sensitivity check index (R-QUICKI) using the following formula:  $1/[\log \text{ insulin } (\mu\text{U/mL}) + \log \text{ glucose } (\text{mg/dL}) + \log \text{ FFA } (\text{mmol/l})]$  [41,42].

### Statistical analysis

The data were analyzed using the "Statistical Package for Social Sciences" (IBM SPSS Statistics, v 21). Two-way ANOVA analysis (2x2 factorial designs: diet  $\times$  treadmill intervention) was used to evaluate the average daily fluid (log transformed to homogenate variances), solid and nutrient consumptions, biometric and plasma parameters and was also used for, the open field data and the number of crossings and defecations in the shuttle box. When one or both main effects were statistically significant, one-way ANOVA followed by the least significance difference (LSD) test was used to determine treatment differences between groups. Independent Student's t-test for comparisons across groups was applied when necessary. The number of avoidances and the average escape latencies over shuttle-box a avoidance acquisition were analyzed by repeated measures ANOVA with trials (4 blocks of 10-trials each) as within-subject factors, and diet and treadmill intervention were used as between-subject factors. A paired t-test was used for comparisons between the first and fourth 10-trial blocs of the shuttle-box variables. Linear relationships between key variables were tested using Pearson's correlation coefficients. The cumulative sugary milk intake and carbohydrate consumption in CAF-fed animals were analyzed by a repeated measures ANOVA with weeks (8) as a within-subject factor and treadmill intervention as a between-subject factor. All values are expressed as the mean  $\pm$  standard error for the mean (SEM). Statistical significance was set at  $p < 0.05$  for all tests.

## Results

### Change in the average daily consumption of liquids and food in CAF- and ST-fed rats

CAF-fed animals consumed less water and chow than the ST-fed groups (diet:  $F(1,82) = 236.15$ ,  $p < 0.001$  and  $F(1,82) = 2273.1$ ,  $p < 0.001$ , respectively; [Table 1](#)) but more total fluid (log

Table 1. Average daily intake (mean  $\pm$  SEM) of standard chow, fluids, nutrients and energy over the 8 weeks of the experiment.

	SED_ST	CON_ST	TML_ST	TMH_ST	SED_CAF	CON_CAF	TML_CAF	TMH_CAF	two-way ANOVA
Chow (g/d)	17.11 $\pm 0.41^A$	17.49 $\pm 0.28^A$	18.66 $\pm 0.71^B$	16.43 $\pm 0.21^A$	3.88 $\pm 0.47^C$	4.68 $\pm 0.23^{Ca}$	4.48 $\pm 0.14^{Ca}$	3.73 $\pm 0.14^{Ca}$	D,T
Total solid food (g/d)	17.11 $\pm 0.41^{AB}$	17.49 $\pm 0.28^{AB}$	18.66 $\pm 0.71^{BC}$	16.43 $\pm 0.21^A$	17.83 $\pm 0.58^{AB}$	18.58 $\pm 1.12^{BC}$	20.42 $\pm 0.79^{CD}$	22.05 $\pm 0.63^{ab}$	D,TDxT
Water (g/d)	25.66 $\pm 1.10^A$	27.38 $\pm 0.46^A$	27.83 $\pm 1.00^A$	26.19 $\pm 1.09^A$	12.17 $\pm 1.55^B$	14.02 $\pm 1.53^{Ba}$	13.33 $\pm 1.86^{Ba}$	11.91 $\pm 1.16^{Ba}$	D
Milk (g/d)	---	---	---	---	62.29 $\pm 2.59^A$	61.64 $\pm 2.26^{AB}$	54.27 $\pm 2.40^{BC}$	51.69 $\pm 3.72^C$	
Total fluid (g/d)	25.66 $\pm 1.10^A$	27.38 $\pm 0.46^A$	27.83 $\pm 1.00^A$	26.19 $\pm 1.09^A$	74.46 $\pm 2.99^B$	75.66 $\pm 2.51^{Ba}$	66.95 $\pm 2.67^{Ca}$	64.15 $\pm 4.03^{ab}$	D
KCAL	58.16 $\pm 1.38^A$	59.45 $\pm 0.95^A$	63.43 $\pm 2.40^A$	55.85 $\pm 0.72^A$	190.3 $\pm 7.8^B$	185.0 $\pm 5.4^{BC}$	176.5 $\pm 8.2^{BC}$	168.9 $\pm 8.6^{ab}$	D
Protein	3.22 $\pm 0.08^A$	3.29 $\pm 0.05^{AB}$	3.51 $\pm 0.13^B$	3.09 $\pm 0.04^A$	2.74 $\pm 0.14^C$	2.81 $\pm 0.04^{Ca}$	2.75 $\pm 0.06^{Ca}$	2.64 $\pm 0.08^{Ca}$	D,T
Fat	1.03 $\pm 0.02^A$	1.05 $\pm 0.02^A$	1.12 $\pm 0.04^A$	0.99 $\pm 0.01^A$	3.92 $\pm 0.09^B$	4.11 $\pm 0.11^{Ba}$	3.96 $\pm 0.16^{Ba}$	3.94 $\pm 0.17^{Ba}$	D
Carbohydrate	8.55 $\pm 0.20^A$	8.75 $\pm 0.14^A$	9.33 $\pm 0.35^A$	8.21 $\pm 0.11^A$	37.68 $\pm 1.64^B$	36.2 $\pm 1.23^{Ba}$	34.37 $\pm 1.78^{Ca}$	32.47 $\pm 1.88^{ab}$	D
Fibre	0.65 $\pm 0.02^A$	0.66 $\pm 0.01^{AB}$	0.71 $\pm 0.03^B$	0.62 $\pm 0.01^A$	0.45 $\pm 0.02^C$	0.48 $\pm 0.03^{Ca}$	0.52 $\pm 0.02^{Ca}$	0.54 $\pm 0.01^{Ca}$	D,T,DxT

Rats were fed from weaning (at day 21 of life) for 8 weeks with a ST or a CAF (g/d = grams per day) diet and trained on a treadmill at different intensities (CON: 0 m/min; TML: 12 m/min or TMH: 17 m/min) during the same period. SED rats were left undisturbed in the home cage except for cage cleaning and body weight measurements. Data show average daily intake expressed as gram/day/rat. The statistical comparison was performed by two-way ANOVA (2 diet (ST, CAF)  $\times$  4 treatment (SED, CON, TML, and TMH)). D: the effect of the type of diet, T: the effect of the treatment, DxT: the effect of the diet  $\times$  treatment interaction (two-way ANOVA,  $p < 0.05$ ). <sup>ABC</sup> Mean values within a row with dissimilar capital letters were significantly different among groups (one-way ANOVA and LSD post hoc comparison,  $p < 0.05$ ). <sup>a</sup>  $p < 0.05$  vs the corresponding ST group (same treatment); <sup>b</sup>  $p < 0.05$  vs the corresponding SED group (same diet) ( $p < 0.05$  Mann-Whitney test).

doi:10.1371/journal.pone.0153687.t001

transformed) and total solid food ( $F(1,82) = 1091.74$ ,  $p < 0.001$  and  $F(1,82) = 24.02$ ,  $p < 0.001$ , respectively; Table 1). In regard to the nutrients, the CAF-fed rats consumed quadruple the amount of fat ( $F(1,82) = 1801.3$ ,  $p < 0.001$ ; Table 1) and carbohydrates ( $F(1,82) = 977.2$ ,  $p < 0.001$ ; Table 1) but less protein ( $F(1,82) = 78.82$ ,  $p < 0.001$ ; Table 1) and fiber ( $F(1,82) = 148.213$ ,  $p < 0.001$ ; Table 1) compared with the ST-fed animals. The different eating behavior between ST- and CAF-fed rats was translated into considerable changes in energy intake, with the CAF-fed animals consuming triple the amount of Kcal compared with that of the ST-fed animals ( $F(1,82) = 971.1$ ,  $p < 0.001$ ; Table 1).

Treadmill intervention increased the chow and total solid food ( $F(3,82) = 5.94$ ,  $p = 0.001$  and  $F(3,82) = 5.38$ ,  $p < 0.01$ , respectively; Table 1), with the latter effect being greater in CAF-fed animals (diet  $\times$  treadmill interaction:  $F(3,82) = 3.904$ ,  $p < 0.05$ ; Table 1). Treadmill intervention also decreased the protein consumption ( $F(3,82) = 4.597$ ,  $p < 0.05$ ; Table 1) but increased the fiber consumption ( $F(3,82) = 4.89$ ,  $p < 0.01$ ; Table 1); this latter effect was greater in the CAF-fed animals (diet  $\times$  treadmill interaction:  $F(3,82) = 2.94$ ,  $p < 0.05$ ; Table 1). Treadmill intervention residually decreased the total fluid consumption in the CAF-fed animals (diet  $\times$  treadmill interaction:  $F(3,82) = 2.652$ ,  $p = 0.055$ ; Table 1). This effect was mainly caused by a significant decrease in milk intake in both the TML-CAF and TMH-CAF groups compared with the SED-CAF and/or CON-CAF animals (one-way ANOVA,  $p < 0.05$ ; Table 1). The TMH-CAF group had the greatest increase in total solid food consumption, reaching

significant differences compared with all the other groups except TML-CAF ( $p < 0.05$ ; Table 1). However, the TMH-CAF animals showed decreased carbohydrate and kcal consumption compared with that of the SED-CAF rats and increased fiber consumption when compared with that of the SED-CAF and CON-CAF groups ( $p < 0.05$ , Table 1).

### Impact of CAF diet and treadmill intervention on the body and tissue weights

At the end of the study, the four groups of CAF-fed animals had become overweight compared with the ST-fed controls (Table 2;  $F(1,81) = 98.98$ ,  $p < 0.001$ ), which could be attributed to their higher daily energy intake (Table 1). Importantly, the increase in RWAT weight (expressed as percentage of body weight) found in the CAF-fed animals was partially counteracted by treadmill intervention at low and higher intensity (significant diet x treadmill interaction:  $F(3,81) = 3.022$ ,  $p < 0.05$ , Table 2); the observed effect was similar in the two groups of runners (20% decrease compared with the CON-CAF group; Table 2). No other diet and/or treadmill intervention effects appeared in the relative RWAT or liver weight.

### Metabolic consequences of CAF feeding and treadmill intervention

CAF feeding for 8 weeks increased the circulating levels of glucose ( $\chi^2(7) = 13.90$ ,  $p = 0.053$ ) and insulin ( $\chi^2(7) = 50.13$ ,  $p < 0.001$ ), and the increase was not counteracted by the treadmill intervention performed either at low or at higher intensity (Table 2). At the end of the study, the TMH-CAF group showed significantly lower serum levels of NEFAs than did the SED-CAF and the CON-CAF groups ( $p < 0.05$ , Student's t-test), and a similar trend was observed in the

**Table 2. Biometric and plasma parameters (mean  $\pm$  SEM) of sedentary (SED), control (CON) and treadmill-trained (TML: 12 m/min; TMH: 17 m/min) female rats fed a standard chow diet (ST) or a cafeteria (CAF) + standard chow diet.**

	SED-ST	CON-ST	TML-ST	TMH-ST	SED-CAF	CON-CAF	TML-CAF	TMH-CAF	two-way ANOVA
<b>Biometric parameters</b>									
Initial body weight (g)	63 $\pm$ 2	61 $\pm$ 2	62 $\pm$ 2	61 $\pm$ 1	60 $\pm$ 1	63 $\pm$ 1	61 $\pm$ 2	61 $\pm$ 2	
Final body weight (g)	266 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	252 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	275 $\pm$ 11 <sup>a</sup>	253 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	320 $\pm$ 13 <sup>b</sup>	327 $\pm$ 6 <sup>b</sup>	323 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	309 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	D
Body weight gain (g)	204 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	191 $\pm$ 7 <sup>a</sup>	212 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	192 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	260 $\pm$ 12 <sup>b</sup>	264 $\pm$ 8 <sup>b</sup>	262 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	248 $\pm$ 9 <sup>b</sup>	D
Liver weight (%)	2.61 $\pm$ 0.04	2.59 $\pm$ 0.04	2.72 $\pm$ 0.04	2.64 $\pm$ 0.07	2.50 $\pm$ 0.06	2.56 $\pm$ 0.06	2.63 $\pm$ 0.05	2.60 $\pm$ 0.11	
RWAT weight (%)	1.68 $\pm$ 0.17 <sup>ab</sup>	2.08 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>	2.13 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	1.61 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	4.15 $\pm$ 0.28 <sup>cd</sup>	4.59 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>	3.69 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	3.81 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>	D, T, D $\times$ T
<b>Plasma parameters</b>									
Glucose (mmol/L)	6.50 $\pm$ 0.17 <sup>ab</sup>	6.13 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	6.63 $\pm$ 0.14 <sup>ab</sup>	6.45 $\pm$ 0.31 <sup>ab</sup>	6.99 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	7.16 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	7.06 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	7.21 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	D
Insulin (mmol/L)	11.5 $\pm$ 1.3 <sup>a</sup>	10.3 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	12.6 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	9.4 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	28.7 $\pm$ 4.9 <sup>b</sup>	31.8 $\pm$ 5.5 <sup>b</sup>	52.1 $\pm$ 11.6 <sup>c</sup>	40.8 $\pm$ 9.2 <sup>b</sup>	D
R-QUICKI	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.28 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	D
Triglycerides (mmol/L)	0.88 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.73 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.75 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.74 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.68 $\pm$ 0.22 <sup>bc</sup>	1.81 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	1.33 $\pm$ 0.11 <sup>c</sup>	1.0 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	D, T, D $\times$ T
NEFAs (mmol/L)	0.89 $\pm$ 0.05	0.92 $\pm$ 0.06	0.83 $\pm$ 0.04	0.93 $\pm$ 0.06	0.93 $\pm$ 0.07	0.93 $\pm$ 0.05	0.79 $\pm$ 0.06	0.74 $\pm$ 0.05	
Leptin (ng/mL)	3.09 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	2.94 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	3.48 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	2.94 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	16.2 $\pm$ 2.7 <sup>bc</sup>	18.5 $\pm$ 2.7 <sup>b</sup>	15.4 $\pm$ 1.7 <sup>bc</sup>	12.1 $\pm$ 2.6 <sup>c</sup>	D

Female rats were randomly assigned to eight groups depending on the diet and the treadmill training during the 8 week period: sedentary-standard diet (SED-ST), sedentary-cafeteria diet (SED-CAF), control-standard diet (CON-ST), control-cafeteria diet (CON-CAF), treadmill-low intensity-standard diet (TML-ST), treadmill-low intensity-cafeteria diet (TML-CAF), treadmill-higher intensity standard diet (TMH-ST), and treadmill-higher intensity cafeteria diet (TMH-CAF). Relative liver weight and relative RWAT weight were calculated following the formula (100 \* tissue weight/body weight) and expressed as a percentage of the total body weight. The data are given as the mean  $\pm$  SEM (n = 9–12). The statistical comparison among the different experimental groups was performed by two- and one-way ANOVA. D: the effect of the type of diet; T: the effect of the exercise (two-way ANOVA,  $p < 0.05$ ). <sup>abc</sup> Mean values within a row with dissimilar capital letters were significantly different among groups (one-way ANOVA and LSD post hoc comparison,  $p < 0.05$ ).

doi:10.1371/journal.pone.0153687.t002

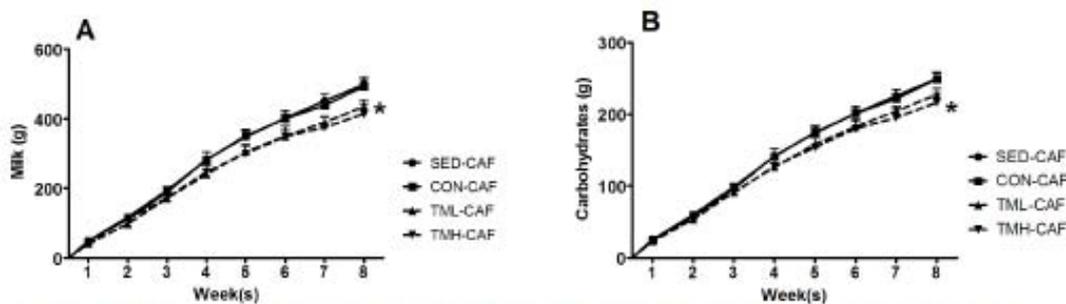
TML-CAF animals relative to the CON-CAF group ( $p = 0.079$ , Student's *t*-test) (Table 2). Despite the drop in the circulating levels of NEFAs observed in the TML-CAF and TMH-CAF groups, treadmill intervention did not ameliorate the loss of insulin sensitivity (assessed by the R-QUICKI index) that resulted from the CAF diet. This fact could be explained, at least in part, by the higher insulin serum levels found in these two groups, especially in the TML-CAF animals; this group differed significantly from both the SED-CAF and the CON-CAF groups (Table 2). CAF-fed animals showed higher levels of serum triglycerides than did the ST-fed animals (diet:  $F(1,81) = 63.10$ ,  $p < 0.001$ ), with this effect being gradually ameliorated by exercise (diet  $\times$  treadmill interaction:  $F(3,81) = 2.664$ ,  $p = 0.054$ ) in the low-intensity runners (27% decrease in the TML-CAF group versus the CON-CAF animals) and almost counteracted in the TMH-CAF animals (45% decrease relative to the CON-CAF animals) (Table 2). In agreement with this last observation, correlation analyses considering all groups indicated negative correlations between treadmill intervention and the circulating levels of triglycerides ( $r = -0.284$ ,  $p = 0.009$ ). When the ST-fed and the CAF-fed groups were considered separately, this negative correlation was only observed in the CAF-fed groups, and the correlation was stronger than that obtained when considering all the groups ( $r = -0.451$ ,  $p = 0.003$ ). Increased circulating levels of leptin were found in the CAF-fed obese animals (diet:  $F(1,81) = 171.60$ ,  $p < 0.001$ ). The treadmill intervention at higher intensity produced a significant decrease in circulating leptin (35% decrease in the TMH-CAF group versus the CON-CAF group,  $p < 0.05$ ; Table 2), which could be related to the lower adiposity observed in these animals. In the ST-fed groups, the treadmill intervention did not produce changes in any of the circulating parameters (Table 2).

#### Correlations among RWAT weight, average carbohydrate consumption and serum leptin levels

A closer inspection of the correlational analysis when considering all the animals together revealed significant correlations between RWAT weight (%) and serum leptin levels ( $r = 0.846$ ,  $p = 0.000$ ), between RWAT weight (%) and the average daily intake of carbohydrates ( $r = 0.849$ ,  $p = 0.000$ ), and between serum leptin levels and the average daily intake of carbohydrates ( $r = 0.732$ ,  $p = 0.000$ ). When the ST-fed and the CAF-fed animals were considered separately, the RWAT weight (%) and serum leptin levels remained correlated for both ST-fed ( $r = 0.716$ ,  $p = 0.000$ ) and CAF-fed ( $r = 0.611$ ,  $p = 0.000$ ) animals. However, although the correlations between RWAT weight (%) and the average daily intake of carbohydrates ( $r = 0.504$ ,  $p = 0.001$ ) and those between circulating levels of leptin and the average daily intake of carbohydrates ( $r = 0.453$ ,  $p = 0.005$ ) were significant in the ST-fed animals, the correlation was not significant in the CAF-fed animals [RWAT weight (%) with carbohydrates ( $r = 0.156$ ,  $p = 0.336$ ); serum leptin levels with carbohydrates ( $r = 0.024$ ,  $p = 0.883$ )].

#### Impact of treadmill intervention on cumulative milk intake and carbohydrates consumption

The cumulative sugary milk intake and carbohydrate consumption over time in the CAF-fed animals are shown in Fig 1. The repeated measures analysis revealed a significant effect of week on both variables (milk:  $F(7,259) = 851.61$ ,  $p < 0.001$ ; carbohydrates:  $F(7,266) = 3298.51$ ,  $p < 0.001$ ), and a significant effect of week  $\times$  treadmill intervention on carbohydrate: ( $F(21,266) = 2.905$ ,  $p < 0.05$ ), thus indicating that the change in carbohydrate consumption over time varied depending on the treadmill intervention group. Decomposition of the significant interaction revealed that the TMH-CAF group had lower milk intake and carbohydrate consumption compared with the SED-CAF group at weeks 7 and 8. No other significant differences were found.



**Fig 1. Cumulative daily A) milk and B) carbohydrate consumption over the 8 weeks of the experiment in CAF-fed groups.** Rats were fed a CAF diet beginning at weaning (at day 21 of life) for 8 weeks and were trained on a treadmill at different intensities (CON: 0 m/min; TML: 12 m/min or TMH: 17 m/min) during the same period. SED rats were left undisturbed in the home cage except for cage cleaning and body weight measurements. The data represent the mean  $\pm$  SEM ( $n = 10-12$ ). CAF-fed animals had higher milk and carbohydrate consumption over time ( $p < 0.001$ ), but the cumulative intake of milk was lower in the TML-CAF and TMH-CAF groups, and the cumulative carbohydrate consumption was lower in the TMH-CAF group (\* $p < 0.05$  vs SED-CAF, after decomposition of the significant week  $\times$  treadmill interaction).

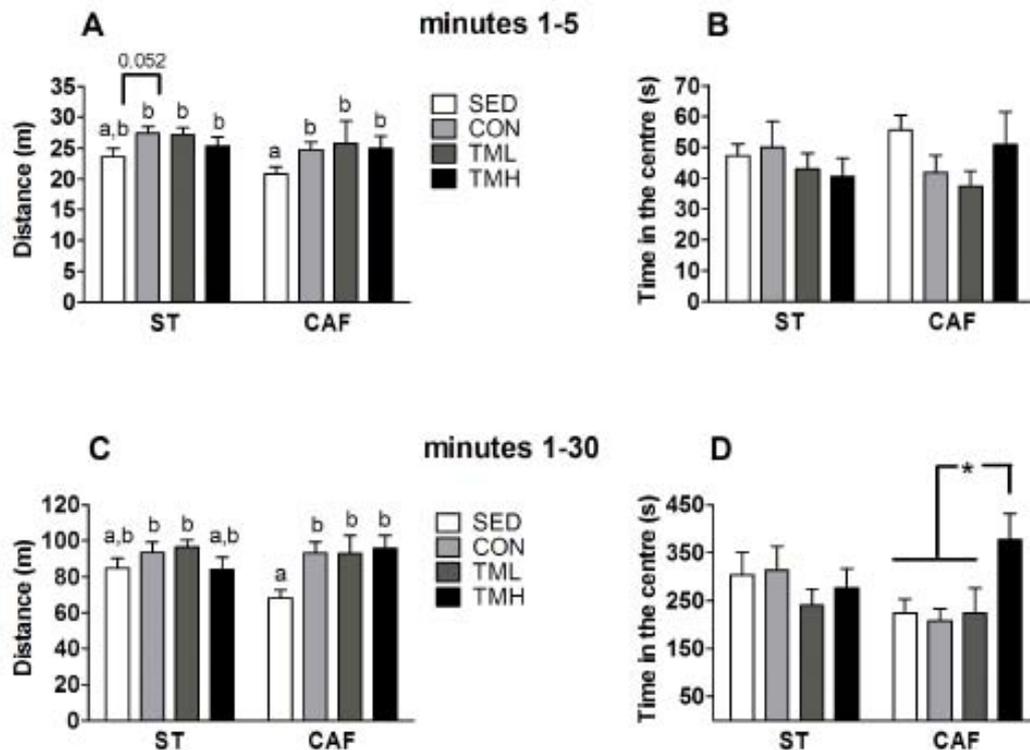
doi:10.1371/journal.pone.0153687.g001

### Impact of CAF diet and treadmill intervention on the open field and two-way active avoidance performance

Overall, CAF feeding residually decreased the distance travelled during the first 5 minutes in the open field. The SED-CAF group traveled the shortest distance and differed from all the other groups, except the SED-ST group at 5 min ( $F(1,82) = 3.939$ ,  $p = 0.054$ ; Fig 2a) and the SED-ST and the TMH-ST groups at 30 min (Fig 2c). Overall, treadmill intervention increased the distance travelled, both during the initial 5 min ( $F(3,82) = 4.319$ ,  $p < 0.01$ ; Fig 2a) and at the end of the 30-min ( $F(3,82) = 3.131$ ,  $p < 0.05$ ; Fig 2c). The two-way ANOVA analysis did not show any overall significant effects of diet and/or treadmill intervention in the time spent in the center of the open field (Fig 2b and 2d), but a closer inspection revealed that TMH-CAF runners spent more time in the center during the 30 minutes of the open field test than did the other CAF-fed groups. This result indicates a decrease in the anxiety-like behavior in the open field for those animals ( $p < 0.05$  Student's *t*-test; Fig 2d). No other significant effects were found in the open field analysis.

Overall as the trials in the shuttle box progressed, the number of avoidances increased, and the escape latencies decreased (trial:  $F(3,219) = 30.47$ ,  $p < 0.001$  and  $F(3,129) = 60.48$ ,  $p < 0.001$ , respectively; Fig 3a and 3b). Compared with ST feeding, CAF feeding impaired the two-way avoidance performance; CAF-fed animals showed a smaller increase in the number of avoidances and a smaller decrease in the escape latencies as the trials progressed (Fig 3a; trial  $\times$  diet interaction: avoidances ( $F(3,219) = 7.48$ ,  $p < 0.001$ ); escape latencies ( $F(3,219) = 8.59$ ,  $p < 0.01$ ). Paired *t*-test comparisons indicated that all ST-fed groups and the TMH-CAF group had an increase in the number of avoidances in the last 10-trial block compared with the first block and that all groups except the SED-CAF group had a decrease in the average escape latency of the last block compared with that of the first one (Fig 3).

In addition, CAF feeding caused an overall decrease in the number of crossings in the shuttle box (diet:  $F(1,80) = 4.175$ ,  $p < 0.05$ ; Fig 4a), and this effect was residually reversed by treadmill intervention (diet  $\times$  treadmill interaction:  $F(3,80) = 2.18$ ,  $p = 0.098$ ; Fig 4a). Treadmill intervention decreased the defecation scores in the shuttle box during two-way active avoidance learning ( $F(3,81) = 4.79$ ,  $p < 0.01$ ; Fig 4b).

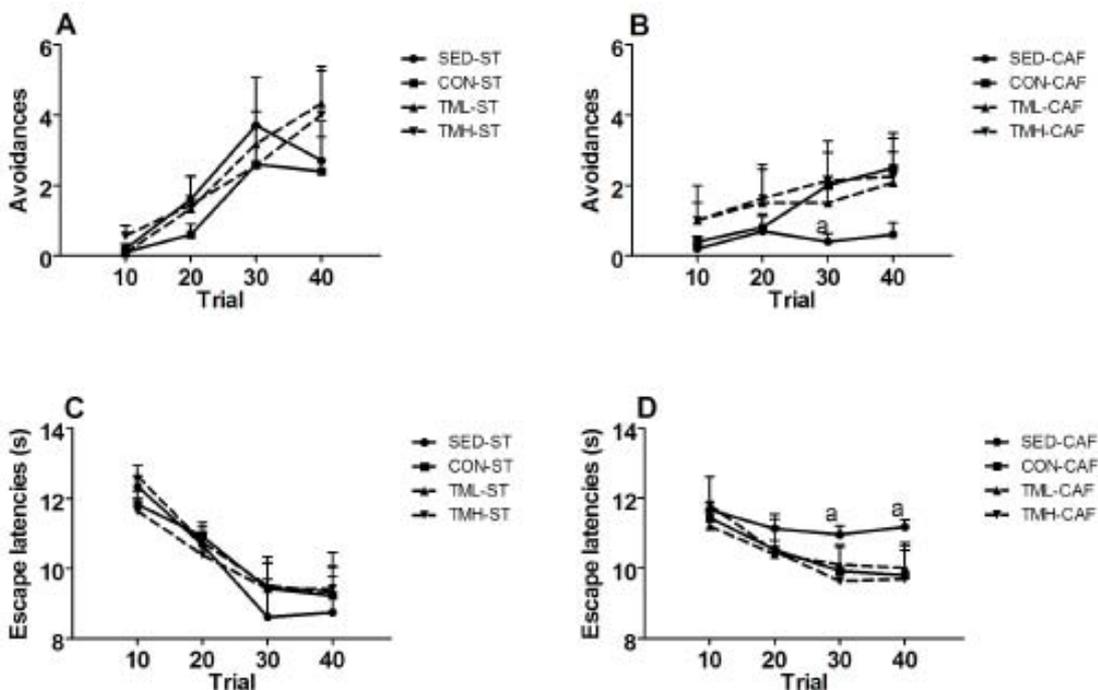


**Fig 2. Distance travelled and time spent in the center of the open field during the first 5 min (A and B, respectively) and during the total 30 min (C and D, respectively).** Rats were fed standard chow (ST) or a calorie diet (CAF) and/or trained on a treadmill (CON: 0 m/min; TML: 12 m/min; TMH: 17 m/min) beginning at weaning for a period of 8 weeks. The sedentary (SED) rats remained in their cages. The data represent the mean  $\pm$  SEM ( $n = 10-12$ ). CAF feeding reduced the distance travelled, whereas the treadmill intervention (handling and running) increased this value. The CAF diet and treadmill intervention at 17 m/min (TMH) strongly increased the time spent in the center. \*<sup>a</sup>Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and LSD post hoc comparison,  $p < 0.05$ ).  $p = 0.052$  between the groups indicated in A; and \*<sup>b</sup> $p < 0.05$  vs all CAF groups in D (independent Student's *t*-test).

doi:10.1371/journal.pone.0153687.g002

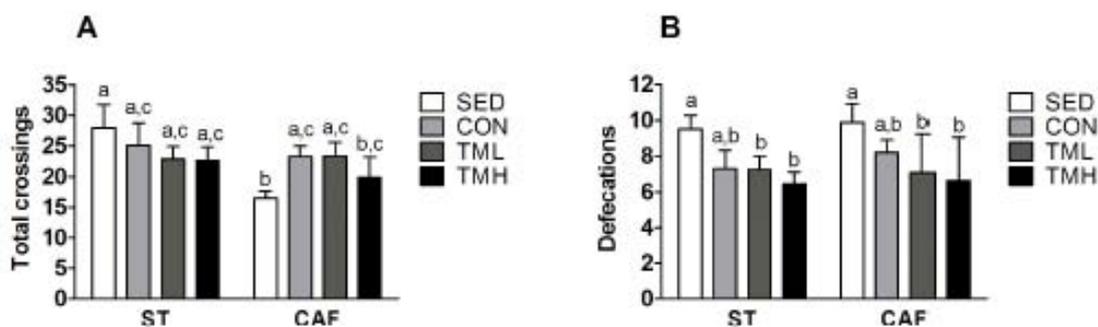
## Discussion

The main observation of the current study was the impairment over time in the shuttle-box session induced by CAF feeding in young adult female rats, suggesting that the CAF diet decreased the capacity to cope with stressful circumstances in which fear and/or threats are induced by a conditioned stimulus [26]. In our experiment, the SED-CAF rats showed fewer avoidance responses and shorter escape latencies than did the SED-ST rats (Fig 3), and that difference was not found in any other CAF-fed group compared with the corresponding ST-fed group (same treadmill intervention). This result demonstrates for the first time that a CAF diet impairs stress-coping strategies and that treadmill intervention partially recovered that deficit. However, that impairment is in apparent discrepancy with some previous studies reporting a reduction in unconditioned anxiety-like behavior in rats fed a palatable CAF diet [12,19] but not with others showing the opposite effect [22,43]. For instance, Alsio et al. [19] reported that the preference for a palatable high-fat diet was inversely associated with high anxiety in tests of



**Fig 3. Avoidance responses (A-B) and average escape latencies (C-D) in blocks of ten trials of the two-way active avoidance session.** Rats were fed standard chow (ST, left) or a cafeteria diet (CAF, right) and/or trained on a treadmill (CON: 0 m/min; TML: 12 m/min; TMH: 17 m/min) beginning at weaning for a period of 8 weeks. The sedentary (SED) rats remained in their cages. The data represent the mean  $\pm$  SEM ( $n = 10-12$ ). CAF feeding impaired the shuttle-box acquisition; a  $p < 0.05$  vs SED-ST group (LSD after significant repeated measures two-way ANOVA).

doi:10.1371/journal.pone.0153687.g003



**Fig 4. Total crossings (A) and defecations (B) in the shuttle box.** Rats were fed standard chow (ST) or a cafeteria diet (CAF) and/or trained on a treadmill (CON: 0 m/min; TML: 12 m/min; TMH: 17 m/min) beginning at weaning for a period of 8 weeks. The sedentary (SED) rats remained in their cages. The data represent the mean  $\pm$  SEM ( $n = 10-12$ ). CAF feeding reduced the total crossings, and treadmill intervention reduced the defecations. Treadmill intervention showed a gradual tendency to increase the crossings in the CAF-fed animals (D $\times$ T interaction:  $p = 0.098$ ). <sup>a, b, c</sup>Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and LSD posthoc comparison,  $p < 0.05$ ).

doi:10.1371/journal.pone.0153687.g004

exploration of novel environments. Additionally, Warncke et al. [44] reported gender-based differences in the effects, with anxiolysis in CAF-fed female rats and signs of increased anxiety in male rats. Interestingly, the CAF diet was the only diet that reduced the response to chronic variable stress [18] in a study using rats that were fed a high-carbohydrate, high-fat or cafeteria diet for 6 weeks. Together, the observed changes in unconditioned tests of anxiety that resulted from CAF diet consumption are not conclusive and might be caused by differences in experimental factors, such as gender, palatability of the food components, the specific composition of the diet (fat, sugar, and carbohydrates) or even the form of diet presentation (pellet vs. food portions). In contrast, the present experiment demonstrates that CAF feeding induced a passive coping style in the two-way (shuttle-box) active avoidance test to the detriment of an active style response. Moreover, active avoidance behavior is considered a coping defensive behavior that changes dynamically depending on the proximity of the threat and the appraisal analysis. When the threat is inevitable, a conditioned stimulus elicits defensive attentive freezing; however, if the organism realizes there is a possibility to actively avoid the developing threat, startle, freezing or passive avoidance responses can be inhibited in preparation for active avoidance [45,46]. In line with this possibility, the present results suggest that cafeteria diet consumption might modify the appraisal analysis by blocking the preparation of a cative avoidance. A recent report showed that a cafeteria diet consistently disrupted the trace fear conditioning in adult male rats [47], in agreement with this explanation, although further experiments are needed for confirmation.

However, Ramirez et al. [48] have very recently demonstrated that rats previously trained for two-way active avoidance showed impaired performance after the disconnection of the basal amygdala-nucleus accumbens pathway, revealing that this pathway is involved in stress-coping adaptive behavior [48]. It is known that a CAF diet induces hyperphagia [10], and other recent studies reported that rats exposed to a cafeteria diet developed overconsumption, altered eating patterns and compulsivity toward palatable food consumption [14,49,50]. Those processes trigger addiction-like neuroadaptive responses in brain reward and food hedonic circuits [49], which overlap with homeostatic systems related to energy stores and demands [51–53]. Those findings and the present results suggest that the two-way active avoidance behavior impairment observed in the CAF-fed animals could be mediated by alterations in the amygdala-nucleus accumbens pathway. The reports indicating that dietary obesity and palatable food consumption are linked to depressed dopamine neurotransmission [54] and dopamine D1 receptor gene expression in the nucleus accumbens [55] support that explanation. Moreover, inhibition of the GABAA receptor in the nucleus accumbens shell produced hyperphagia [56], and it is known that there are receptors for metabolic hormones in the amygdala that modulate its functioning [57].

The current results also showed that a CAF diet reduced motor activity, as measured by the distance travelled in an open field and by the number of crossings made during the habituation period and inter-trial intervals of the shuttle-box session. This finding is consistent with other studies reporting reduced activity in obese rats [12,14,58] and humans [59]. Intriguingly, less active animals usually learn two-way avoidance behavior later than do more active animals, indicating that decreased motor activity might also mediate the CAF-induced impairment in this task [60].

Regarding treadmill intervention, the highest significant improvement in two-way active avoidance performance among the CAF-fed groups was found in the TMH-CAF group, indicating that treadmill intervention at higher intensity partially reversed the CAF-induced impairment in that task. The current results also showed that treadmill intervention reduced the defecation during the two-way active avoidance task and increased the distance travelled in the open field. Moreover, the TMH-CAF group that trained at 17 m/min had spent the greatest amount of time in the center of the open field at the end of the 30-min test (Fig 2). Decreased

defecation, increased exploration and increased time spent in open spaces have been associated with diminished anxiety-like behavior [61], thus supporting the treadmill-induced decrease in the anxiety levels of the TMH-CAF animals. The literature on rodent studies of the effects of treadmill intervention indicates different outcomes depending on the intensity and/or duration of the exercise. For example, vigorous-intensity exercise (20 m/min, 45 min/day, 5 days/week for 18 weeks) did not change anxiety-like behavior, as measured in the elevated plus-maze, the open field, social interaction and conditioned freezing [62]. By contrast, treadmill exercise protocols of low (12 m/min, 30 min/day) or middle-intensity (14 m/min, 60 min/day) led to a reduction of anxiety-like behavior in the elevated plus-maze and the open field tests [34,35], as well as in the light-dark test [63]; however, the absence of effects have also been reported [37]. Regarding the effects in conditioned tests, we have recently reported that low-intensity treadmill exercise (12 m/min, 30 min/day, 32 weeks) improved two-way active avoidance behavior in both male and female chow-fed adult rats, thus resulting in better conflict coping strategy [36]; this finding is consistent with evidence from human studies indicating that exercise might be an effective intervention for anxiety disorders [64]. As in the present study we only examined female rats, future studies including male rats may help elucidate gender differential effects of exercise on active avoidance behavior in DIO animals [65].

As expected [9,32,66], the biometric and biochemical analyses revealed that CAF feeding that begins at weaning and continues until late adolescence increased the body weight gain, the relative retroperitoneal adipose tissue weight, and the circulating levels of glucose, insulin, triglycerides and leptin. Treadmill intervention prevented the relative increase in RWAT weight and triglyceride levels produced by CAF feeding and also decreased the circulating levels of NEFAs in CAF-fed animals. This result is consistent with the decreased abdominal fat and adipocyte hypertrophy found in DIO rodents after treadmill intervention [32,66] and with the diminished circulating free fatty acid levels found in treadmill-exercised compared with sedentary CAF-fed mice [66]. Furthermore, at higher intensity, the current treadmill intervention partially reversed the increase in serum leptin levels produced by the CAF-diet consumption. Hyperleptinemia is a characteristic manifestation of obesity in humans and rodents that develops with resistance to the action of leptin because the elevated circulating levels of this adipokine can no longer effectively perform its regulatory anorectic function [67–69]. The increased serum leptin levels, RWAT weight (%), body weight gain and carbohydrate and energy intake found in CAF-fed animals compared with their lean counterparts agree with a dysregulation of leptin signaling in the CAF-obese animals. Furthermore, the loss of positive correlations between serum leptin levels and the average daily intake of carbohydrates when only CAF-fed groups were considered in the analysis would reinforce this hypothesis. Interestingly, the decrease in both the circulating levels of leptin and the relative RWAT weight together with the lower energy intake observed in the TMH-CAF animals compared with the non-runner CAF groups would suggest that treadmill exercise at higher intensity might partially prevent leptin resistance. These results are consistent with a net loss of visceral adipose stores and with a 35% reduction in leptin levels previously reported in exercising DIO rats [70]; the findings also agree with the study of Patterson et al. [71] reporting that in inherently leptin-resistant rats that were selectively bred to develop DIO, postweaning exercise caused resistance to obesity on a high-energy diet [71]. Moreover, the threshold for sweet taste has also been related to the action of leptin on taste cells such that an increase in plasma leptin levels activates the leptin receptor, thus reducing the sweet taste information conveyed to the brain. This action of leptin is specific for the inhibition of peripheral gustatory neural and behavioral responses to sweet substances without affecting responses to sour, salty and bitter substances [72,73]. In addition, a diurnal variation in the response to sweet compounds in parallel with that for leptin levels has also been reported in non-obese rodents and humans, but not in obese subjects [72].

Additionally, licking behaviors in response to sucrose and saccharin in rodents were decreased after injection of leptin in obese leptin-deficient and lean normal littermates, but not in obese receptor-deficient mice [74]. In accordance with these findings, it is tempting to speculate that the increase in carbohydrate and sugary milk intake found in CAF-fed rats could be due to an increase in the sweet threshold in our animals (i.e., mainly in the SED-CAF and CON-CAF groups); similarly, a partial prevention of that leptin-mediated effect as a result of treadmill intervention could also contribute to the treadmill-induced decrease in the cumulative sugary milk intake and carbohydrate consumption shown by the TMH-CAF group. Additional experiments aimed at measuring sweet thresholds in ST-fed and CAF-fed animals are needed to further explain that hypothesis; as far as we know, no studies have addressed this issue.

In conclusion, the major finding of the present study is that CAF feeding impairs adaptive coping strategies in young adult female rats as measured by active avoidance behavior. This effect can be partially reversed by treadmill exercise at higher intensity during CAF diet consumption, thus suggesting that exercise might be an effective intervention for anxiety disorders.

### Author Contributions

Conceived and designed the experiments: RME AC JMB. Performed the experiments: IC JFL AC JMB RME. Analyzed the data: IC JFL AC JMB RME LC. Wrote the paper: IC TC JMB LA LCRME.

### References

- Janssen I, Katzmarzyk PT, Boyce WF, Vereecken C, Mulvihill C, Roberts C, et al. Comparison of overweight and obesity prevalence in school-aged youth from 34 countries and their relationships with physical activity and dietary patterns. *Obes Rev*. 2005; 6:123–32. PMID: [15836463](#)
- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011–2012. *JAMA*. 2014; 311:806–14. doi: [10.1001/jama.2014.732](#) PMID: [24570244](#)
- Simon GE, Von Korff M, Saunders K, Miglioretti DL, Crane PK, van Belle G, et al. Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Arch Gen Psychiatry*. 2006; 63:324–30. PMID: [16818872](#)
- Lopreati AL, Drummond PD. Obesity and psychiatric disorders: commonalities in dysregulated biological pathways and their implications for treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013; 45:92–99. doi: [10.1016/j.pnpb.2013.05.006](#) PMID: [23685202](#)
- Singh M. Mood, food, and obesity. *Front Psychol*. 2014; 5:925. doi: [10.3389/fpsyg.2014.00925](#) PMID: [25225489](#)
- Luppino FS, de Wit LM, Bouvy PF, Stijnen T, Cuijpers P, Penninx BW, et al. Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Arch Gen Psychiatry*. 2010; 67:220–9. doi: [10.1001/archgenpsychiatry.2010.2](#) PMID: [20194822](#)
- Kennedy AJ, Elliott KL, King VL, Hasty AH. Mouse models of the metabolic syndrome. *Dis Model Mech*. 2010; 3: 156–166. doi: [10.1242/dmm.003467](#) PMID: [20212084](#)
- Lutz TA, Woods SC. Overview of animal models of obesity. *Curr Protoc Pharmacol*. 2012; Chapter 5: Unit 5.61. doi: [10.1002/0471141755.ch0561](#) PMID: [22948848](#)
- Sampoy BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freeman AJ, Muehlebauer MJ, Fueger PT, et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring)*. 2011; 19:1109–1117.
- Shafiq A, Murray B, Rumsey D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite*. 2009; 52:34–38. doi: [10.1016/j.appet.2008.07.004](#) PMID: [18680774](#)
- Brandt N, De Bock K, Richter EA, Hespel P. Cafeteria diet-induced insulin resistance is not associated with decreased insulin signaling or AMPK activity and is alleviated by physical training in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010; 299:E215–224. doi: [10.1152/ajpendo.00098.2010](#) PMID: [20484011](#)
- Laitinen JF, Cairns A, del Bas JM, Torregrosa D, Cigarrón I, Pallàs M, et al. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. *PLoS One*. 2014; 9:e85049. doi: [10.1371/journal.pone.0085049](#) PMID: [24482678](#)

13. Scheggi S, Secci ME, Marchese G, De Montis MG, Gambarini C. Influence of palatability on motivation to operate for caloric and non-caloric food in non food-deprived and food-deprived rats. *Neuroscience*. 2013; 236:320–331. doi: [10.1016/j.neuroscience.2013.01.027](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.027) PMID: [23370321](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23370321/)
14. Martin SI, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. *PLoS One*. 2013; 8:e60407. doi: [10.1371/journal.pone.0060407](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060407) PMID: [23565243](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23565243/)
15. Heyne A, Kieselbach C, Sahún I, McDonald J, Garff M, Dierssen M, et al. An animal model of compulsive food-taking behaviour. *Addict Biol*. 2009; 14:373–383. doi: [10.1111/j.1369-1600.2009.00175.x](https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2009.00175.x) PMID: [19740365](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19740365/)
16. Panchal SK, Brown L. Rodent models for metabolic syndrome research. *J Biomed Biotechnol*. 2011; 2011:351982. doi: [10.1155/2011/351982](https://doi.org/10.1155/2011/351982) PMID: [21253582](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21253582/)
17. Dallman M. Stress-induced obesity and the emotional nervous system. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2009; 21: 159–165. doi: [10.1016/j.tem.2009.10.004](https://doi.org/10.1016/j.tem.2009.10.004) PMID: [19926299](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19926299/)
18. Zeani N, Daher C, Fromentin G, Tome D, Darcet N, Chaumontet C. A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. *Stress*. 2013; 16:211–219. doi: [10.3109/10253890.2012.706952](https://doi.org/10.3109/10253890.2012.706952) PMID: [22775984](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22775984/)
19. Alsö J, Roman E, Olszewski PK, Jonsson P, Frødtksson R, Levine AS, et al. Inverse association of high-fat diet preference and anxiety-like behavior: a putative role for urocortin 2. *Genes Brain Behav*. 2009; 8:193–202. doi: [10.1111/j.1601-183X.2008.00464.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2008.00464.x) PMID: [19077174](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19077174/)
20. Wright T, Langley-Evans SC, Voigt J. The impact of maternal cafeteria diet on anxiety-related behaviour and exploration in the offspring. *Physiol Behav*. 2011; 103:164–172. doi: [10.1016/j.physbeh.2011.01.008](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.01.008) PMID: [21241725](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21241725/)
21. Mariani J, Morris MJ. Palatable cafeteria diet ameliorates anxiety and depression-like symptoms following an adverse early environment. *Psychoneuroendocrinology*. 2010; 35:717–728. doi: [10.1016/j.psneuen.2009.10.013](https://doi.org/10.1016/j.psneuen.2009.10.013) PMID: [19939573](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19939573/)
22. Souza CG, Moreira JD, Siquaira IR, Pereira AG, Rieger DK, Souza DO, et al. Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. *Life Sci*. 2007; 81:199–203. PMID: [17574275](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17574275/)
23. Boutin M. Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective. *Dialogues Clin Neurosci*. 2015; 17:295–303. PMID: [26487910](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26487910/)
24. Cryan JF, Sweeney FF. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery. *Br J Pharmacol*. 2011; 164:1129–1161. doi: [10.1111/j.1476-5381.2011.01362.x](https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01362.x) PMID: [21545412](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21545412/)
25. Wall PM, Measler C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001; 25:275–86. PMID: [11379181](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11379181/)
26. Steimer T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues Clin Neurosci*. 2011; 13:495–506. PMID: [22275854](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22275854/)
27. El Ej N, Lac G, Alya B, Lasram M, Zaouali M, Tabka Z, et al. Additive effect of diets and training on total insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in rats. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2010; 71:297–302. doi: [10.1016/j.ando.2010.02.002](https://doi.org/10.1016/j.ando.2010.02.002)
28. Wang J, Chen C, Wang RY. Influence of short- and long-term treadmill exercises on levels of ghrelin, obestatin and NPY in plasma and brain extraction of obese rats. *Endocrine*. 2008; 33:77–83. doi: [10.1007/s12020-008-9056-z](https://doi.org/10.1007/s12020-008-9056-z) PMID: [18389390](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18389390/)
29. Goularte JF, Ferreira MB, Sanvito GL. Effects of food pattern change and physical exercise on cafeteria diet-induced obesity in female rats. *Br J Nutr*. 2012; 108:1511–1518. doi: [10.1017/S0007114511006930](https://doi.org/10.1017/S0007114511006930) PMID: [22264412](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22264412/)
30. Vaisy M, Szulcok K, Mats M, De Bock K, Heselink MK, Eijnde BO, et al. Hyperglycemic diet and training alter insulin sensitivity, intramyocellular lipid content but not UCP3 protein expression in rat skeletal muscles. *Int J Mol Med*. 2010; 25:905–913. PMID: [20428795](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20428795/)
31. Xu X, Ying Z, Cai M, Xu Z, Li Y, Jiang SY, et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011; 300:R1115–1125. doi: [10.1152/ajpregu.00806.2010](https://doi.org/10.1152/ajpregu.00806.2010) PMID: [21368268](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21368268/)
32. Hung YH, Linden MA, Gordon A, Rector RS, Buhman KK. Endurance exercise training programs intestinal lipid metabolism in a rat model of obesity and type 2 diabetes. *Physiol Rep*. 2015; 3. pii: e12232. doi: [10.1481/physr.12232](https://doi.org/10.1481/physr.12232) PMID: [26602012](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26602012/)
33. Woo J, Shin KO, Park SY, Jang KS, Kang S. Effects of exercise and diet change on cognition function and synaptic plasticity in high fat diet induced obese rats. *Lipids Health Dis*. 2013; 12:144. doi: [10.1186/1476-511X-12-144](https://doi.org/10.1186/1476-511X-12-144) PMID: [24098894](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24098894/)

34. Fulk LJ, Stock HS, Lynn A, Marshall J, Wilson MA, Hand GA. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *Int J Sports Med* 2004; 25:79–82. PMID: [14750018](#)
35. Pietrelli A, Lopez-Costa J, Gofri R, Brusca A, Basso N. Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience* 2012; 202:252–266. doi: [10.1016/j.neuroscience.2011.11.054](#) PMID: [22183054](#)
36. Lalanza JF, Sanchez-Roige S, Giguera I, Gagliano H, Fuentes S, Armato A, et al. Long-term moderate treadmill exercise promotes stress-coping strategies in male and female rats. *Sci Rep*. 2015; 5:16166. doi: [10.1038/srep16166](#) PMID: [26538081](#)
37. Lalanza JF, Sanchez-Roige S, Gagliano H, Fuentes S, Bayod S, Camins A, et al. Physiological and behavioural consequences of long-term moderate treadmill exercise. *Psychoneuroendocrinology*. 2012; 37:1745–1754. doi: [10.1016/j.psychoneu.2012.03.008](#) PMID: [22472479](#)
38. Garcia-Capdevila S, Portell-Cortés I, Tomas-Garcia M, Coll-Andreu M, Costa-Miñarrochs D. Effects of long-term voluntary exercise on learning and memory processes: dependency of the task and level of exercise. *Behav Brain Res* 2009; 202:162–170. doi: [10.1016/j.bbr.2009.03.020](#) PMID: [19463697](#)
39. Bayod S, Del Valle J, Canudas AM, Lalanza JF, Sanchez-Roige S, Camins A, et al. Long-term treadmill exercise induces neuroprotective molecular changes in rat brain. *J Appl Physiol* (1985). 2011; 111:1380–1390. doi: [10.1152/jappphysiol.00425.2011](#)
40. Vallado-Abecasis I, Stuzchi P, Cano V, Fernández-Alfonso MS, Merino B, Gil-Ortega M, Folio A, Morales L, Ruiz-Gayo M, Del Olmo N. High-fat diets impair spatial learning in the radial-arm maze in mice. *Neurobiol Learn Mem*. 2011 Jan; 95(1):80–5. doi: [10.1016/j.nlm.2010.11.007](#) PMID: [21093599](#)
41. Perseghin G, Caumo A, Caloni M, Testolin G, Luzi L. Incorporation of the fasting plasma FFA concentration into QUICKI improves its association with insulin sensitivity in nonobese individuals. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2001; 86: 4776–4781. PMID: [11600540](#)
42. Borzi A, Livingstone C, Ferris GA. The biochemical assessment of insulin resistance. *Annals of clinical biochemistry* 2007; 44(Pt4): 324–42. PMID: [17594780](#)
43. Buchenauer T, Behrendt P, Bode FJ, Horn R, Brabant G, Stephan M, et al. Diet-induced obesity alters behavior as well as serum levels of corticosterone in F344 rats. *Physiol Behav*. 2009; 98:563–569. doi: [10.1016/j.physbeh.2009.09.008](#) PMID: [19751751](#)
44. Wamala W, Klaus S, Fink H, Langley-Evans SC, Voigt J-P. The impact of cafeteria diet feeding on physiology and anxiety-related behaviour in male and female Sprague-Dawley rats of different ages. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014; 116:45–54. doi: [10.1016/j.pbb.2013.11.016](#) PMID: [24269545](#)
45. Moscariello JM, LeDoux JE. Active avoidance learning requires prefrontal suppression of amygdala-mediated defensive reactions. *J Neurosci*. 2013; 33:3815–3823. doi: [10.1523/JNEUROSCI.2596-12.2013](#) PMID: [23447593](#)
46. Löw A, Weymar M, Hamm AO. When Threat Is Near, Get Out of Here: Dynamics of Defensive Behavior During Freezing and Active Avoidance. *Psychol Sci*. 2015; 26:1706–1716. doi: [10.1177/0956797615597332](#) PMID: [26408036](#)
47. Reichelt AC, Maniam J, Westbrook RF, Morris MJ. Dietary-induced obesity disrupts trace fear conditioning and decreases hippocampal reelin expression. *Brain Behav Immun*. 2015; 43:68–75. doi: [10.1016/j.bbi.2014.07.005](#) PMID: [25043993](#)
48. Ramirez F, Moscariello JM, LeDoux JE, Sears RM. Active avoidance requires a serial basal amygdala to nucleus accumbens shell circuit. *J Neurosci*. 2015; 35:3470–3477. doi: [10.1523/JNEUROSCI.1331-14.2015](#) PMID: [25716846](#)
49. Johnson PM, Kenny PJ. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nat Neurosci*. 2010; 13:635–641. doi: [10.1038/nn.2519](#) Erratum in: *Nat Neurosci*. 2010 Aug; 13(8):1033. PMID: [20348917](#)
50. Kenny PJ. Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron*. 2011; 69: 664–679. doi: [10.1016/j.neuron.2011.02.016](#) PMID: [21338878](#)
51. Stice E, Figlewicz DP, Gosnell BA, Levine AS, Pratt WE. The contribution of brain reward circuits to the obesity epidemic. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013; 37:2047–2058. doi: [10.1016/j.neubiorev.2012.12.001](#) PMID: [23237885](#)
52. Hebebrand J, Albayrak Ö, Adan R, Antel J, Dieguez C, de Jong J, et al. "Eating addiction", rather than "food addiction", better captures addictive-like eating behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014; 47: 295–306. doi: [10.1016/j.neubiorev.2014.08.016](#) PMID: [25205078](#)
53. Alonso-Alonso M, Woods SC, Pelchat M, Grigson PS, Stice E, Farooqi S, et al. Food reward system: current perspectives and future research needs. *Nutr Rev*. 2015; 73:296–307. doi: [10.1093/nutrx/nuv002](#) PMID: [26011903](#)

54. Geiger BM, Haburcak M, Avena NM, Moyer MC, Hoebel BG, Pothos EN. Deficits of mesolimbic dopamine neurotransmission in rat dietary obesity. *Neuroscience*. 2009; 159:1193–1199. doi: [10.1016/j.neuroscience.2009.02.007](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.02.007) PMID: [19409204](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19409204/)
55. Aisö J, Olszewski PK, Norbäck AH, Gunnarsson ZE, Levine AS, Pickering C, et al. Dopamine D1 receptor gene expression decreases in the nucleus accumbens upon long-term exposure to palatable food and differs depending on diet-induced obesity phenotype in rats. *Neuroscience*. 2010; 171: 779–787. doi: [10.1016/j.neuroscience.2010.09.046](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.09.046) PMID: [20875939](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20875939/)
56. Baldo BA, Aisene KM, Negron A, Kelley AE. Hyperphagia induced by GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition of the nucleus accumbens shell: dependence on intact neural output from the central amygdaloid region. *Behav Neurosci*. 2005; 119:1195–1206. PMID: [16300426](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16300426/)
57. Nazaryan NS, Guarneri DJ, DiLeone RJ. Metabolic hormones, dopamine circuits, and feeding. *Front Neuroendocrinol*. 2010; 31:104–12. doi: [10.1016/j.ynfrn.2009.10.004](https://doi.org/10.1016/j.ynfrn.2009.10.004) PMID: [19836414](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19836414/)
58. Mul JD, van Baxtel R, Bergen DJ, Bains MA, Braakke JH, Toonen PWT et al. Melanocortin receptor 4 deficiency affects body weight regulation, grooming behavior, and substrate preference in the rat. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20:612–621.
59. Pietiläinen KH, Kaprio J, Borg P, Plasqui G, Yki-Järvinen H, Kujala UM et al. Physical inactivity and obesity: a vicious circle. *Obesity* 2008; 16:409–414. doi: [10.1038/oby.2007.72](https://doi.org/10.1038/oby.2007.72) PMID: [18239652](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18239652/)
60. Gray J, McNaughton N. *The neuropsychology of anxiety: An enquiry into the functions of the septo-hippocampal system*. Oxford University Press, 2nd ed., 2000.
61. Fernández-Teruel A, Escotthuaia RM, Gray JA, Aguilar R, Gil L, Giménez-Lirola L, et al. A quantitative trait locus influencing anxiety in the laboratory rat. *Genome Res*. 2002; 12:618–626. PMID: [11932246](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11932246/)
62. Burghardt PR, Fuik LJ, Hand GA, Wilson MA. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res*. 2004; 1019:84–96. PMID: [15306242](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15306242/)
63. Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res*. 2010; 208:545–552. doi: [10.1016/j.bbr.2009.12.039](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.12.039) PMID: [20064565](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20064565/)
64. Asmundson G.J. et al. Let's get physical: a contemporary review of the anxiolytic effects of exercise for anxiety and its disorders. *Depress Anxiety* 2013; 30:362–373. doi: [10.1002/da.22043](https://doi.org/10.1002/da.22043) PMID: [23300122](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23300122/)
65. Schroeder M, Shbio L, Gelber V, Weller A. Post-weaning voluntary exercise exerts long-term moderation of adiposity in males but not in females in an animal model of early-onset obesity. *Horm Behav*. 2010 Apr; 57(4–5):496–505. doi: [10.1016/j.yhbeh.2010.02.008](https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.02.008) PMID: [20193686](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20193686/)
66. Higa TS, Spinola AV, Fonseca-Alaniz MH, Evangelista FS. Remodeling of white adipose tissue metabolism by physical training prevents insulin resistance. *Life Sci*. 2014; 103:41–48. doi: [10.1016/j.lfs.2014.02.039](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.02.039) PMID: [24631137](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24631137/)
67. Fedetch RC, Hamann A, Anderson S, Lillmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med* 1995; 1:1311–1314. PMID: [7493415](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7493415/)
68. Scarpace PJ, Zhang Y. Leptin resistance: a predisposing factor for diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009; 296:R493–500. doi: [10.1152/ajp-regu.90869.2008](https://doi.org/10.1152/ajp-regu.90869.2008) PMID: [19091915](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19091915/)
69. Sáinz N, Barreneche J, Moreno-Aliaga MJ, Martínez JA. Leptin resistance and diet-induced obesity: central and peripheral actions of leptin. *Metabolism*. 2015; 64:35–46. doi: [10.1016/j.metabol.2014.10.015](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.015) PMID: [25497342](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25497342/)
70. Levin BE, Dunn-Meynell AA. Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2004; 296:R771–778. PMID: [14695115](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14695115/)
71. Patterson CM, Bouret SG, Dunn-Meynell AA, Levin BE. Three weeks of postweaning exercise in DIO rats produces prolonged increases in central leptin sensitivity and signaling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009; 296:R537–548. doi: [10.1152/ajp-regu.90869.2008](https://doi.org/10.1152/ajp-regu.90869.2008) PMID: [19158409](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19158409/)
72. Hoto N, Jyotaki M, Yoshida R, Sanematsu K, Shigemata N, Ninomiya Y. New frontiers in gut nutrient sensor research: nutrient sensors in the gastrointestinal tract: modulation of sweet taste sensitivity by leptin. *J Pharmacol Sci*. 2010; 112:8–12. PMID: [20093782](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20093782/)
73. Kawai K, Sugimoto K, Nakashima K, Miura H, Ninomiya Y. Leptin as a modulator of sweet taste sensitivities in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97:11044–11049. PMID: [10995460](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10995460/)
74. Shigemura N, Ohta R, Kusakabe Y, Miura H, Hino A, Koyano K, et al. Leptin modulates behavioral responses to sweet substances by influencing peripheral taste structures. *Endocrinology*. 2004; 145:839–47. PMID: [14592964](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14592964/)

---

*SEGUNDA PARTE, estudios en humanos*

---

## Metodología de la segunda parte

### *Sujetos*

Los estudios realizados en humanos que se presentan en los manuscritos de la segunda parte de esta tesis se hicieron con escolares de enseñanza primaria (Estudio 1B) y secundaria y de 1º año de universidad (Estudio 2B) de centros educativos de la región del Bio-Bio (Chile). Se excluyeron los estudiantes con patologías neurológicas, osteo-articulares, cardiorrespiratorias, metabólicas o tumorales. Todos los estudios fueron aprobados por los comités de ética de la Universidad Santo Tomás, Los Ángeles (Chile) o la Universidad de Concepción, Los Ángeles, (Chile) y todos se realizaron previa firma de cartas de consentimiento de los padres y/o tutores o del participante. Todos los procedimientos de los estudios siguieron los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos según la declaración de Helsinki actualizada en la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil (2013).

### *Procedimientos*

Los escolares de primaria y los estudiantes universitarios fueron distribuidos en función del estado nutricional (normopeso o sobrepeso/obesidad) y del género (hombre o mujer). Así se obtuvieron 4 grupos: hombres-normopeso (H-NP), hombres-sobrepeso/obesidad (H-SPO), mujeres-normopeso (M-NP), mujeres-sobrepeso/obesidad (M-SPO). Los estudiantes de secundaria del estudio 2B fueron distribuidos en 8 grupos según el estado nutricional (normopeso o sobrepeso/obesidad), género (hombre o mujer) y curso (1º+2º o 3º+4º): hombres-normopeso de 1º+2º (H-NP12), hombres-sobrepeso/obesidad de 1º+2º (H-SPO12), mujeres-normopeso de 1º+2º (M-NP12), mujeres-sobrepeso/obesidad de 1º+2º (M-SPO12), hombres-normopeso de 3º+4º (H-NP34), hombres-sobrepeso/obesidad de 3º+4º (H-SPO34), mujeres-normopeso de 3º+4º (M-NP34), mujeres-sobrepeso/obesidad de 3º+4º (M-SPO34).

### *Pruebas realizadas y materiales utilizados*

- *Estado nutricional nutricionales y variables antropométricas.* El peso se obtuvo con una balanza (SECA®, Modelo 713, USA) con una precisión de 0.2 kg y la talla con un cartabón de pared con una precisión de 0.1cm. En los estudiantes de primaria, la obesidad abdominal se midió a través del perímetro de cintura (PC) con una cinta métrica a la altura de la cresta ilíaca. El índice de masa corporal (IMC)/edad fue corregido por el grado de maduración de Tanner. Junto con la talla/edad y el PC/edad se realizaron curvas del CDC/NCHS utilizadas en

el Ministerio de Salud (MINSAL) de Chile para la evaluación nutricional de niños menores de 9 años (MINSAL, Normas técnicas para supervisión nutricional de niños de 0 a 9 años 2014). Para los estudiantes de secundaria y universidad el porcentaje de masa grasa fue medido con una balanza electrónica de bioimpedancia (TANITA, model 545N) y el IMC fue establecido de acuerdo a las curvas de IMC/edad del CDC/NCHS usadas en el MINSAL para la evaluación nutricional de niños y adolescentes y adultos (MINSAL, Diagnóstico del estado nutricional de menores de edad 2013).

- *Condición física.* Se utilizaron 4 tests de campo y el test incremental de Bruce
  - a. *Test de salto a pies juntos.* El escolar debía saltar lo más lejos que pudiera, a pies juntos y sin impulso previo. Se mide la distancia máxima alcanzada (cm). Es un test muy utilizado en baterías de test infantiles y se considera un índice general de fuerza muscular (Castro-Piñero et al 2010b). Se utiliza en el programa Vida Sana del Minsal (Chile) para medir la condición física en la población de entre 2-5 años (MINSAL, Programa vida sana 2010).
  - b. *Test de carrera de 12 metros.* Se mide el tiempo, expresado en segundos, que tarda el escolar en recorrer una distancia de 12 metros (m) (Monsalves-Alvarez et al 2015). Es un test usado para medir velocidad en baterías de test infantiles (Castro-Piñero et al 2010b).
  - c. *Test sentarse pararse (30 second sit to stand; (STS)).* Es uno de los más usados internacionalmente en baterías de test para niños y adolescentes para medir fuerza muscular de miembros inferiores (Castro-Piñero et al 2010a). Consiste en sentarse y pararse en una silla, sin la ayuda de las manos, el número máximo de veces en 30 segundos.
  - d. *Test de marcha de 6 minutos (six minute walk test; (6MWT)).* Se utiliza para medir la capacidad aeróbica en niños y adolescentes (Li et al 2005). Los participantes deben caminar lo más rápido posible para hacer la mayor cantidad de vueltas en un espacio de 20 metros durante 6 minutos, se mide la cantidad de metros recorridos/talla del participante.

Los tests de sentarse pararse y de marcha de 6 minutos se utilizan en el programa “*Vida Sana*” del Ministerio de Salud de Chile para evaluar la condición muscular y funcional respectivamente en población de 6-64 años (MINSAL, Programa vida sana 2010).

- e. Los estudiantes universitarios realizaron además el *test incremental de Bruce en una cinta ergométrica* de acuerdo con criterios preestablecidos (Bentley et al 2007). Brevemente, la velocidad inicial fue de 2,7 k/h a inclinación 0°

durante 3 min, luego la velocidad se incrementó en el primer escalón a 4,0 k/h y a una inclinación de 10°, en los pasos sucesivos la velocidad se incrementó a 1,3-4 k/h y 2° de inclinación cada 3 min hasta llegar a la fatiga. El intercambio de gases se registró con el analizador de gases portátil (Cortex Metamax 3B, Leipzig, Germany). En cada evaluación el analizador fue calibrado de acuerdo a las instrucciones del laboratorio proveedor. El  $VO_{2max}$  se determinó con criterios establecidos previamente (Howley et al 1995): 1) meseta de  $VO_2$  (aumento  $<150$  ml/min), 2)  $RER > 1.1$ , and 3)  $\geq 90\%$  de la frecuencia cardiaca teórica máxima. El  $VO_{2max}$  fue expresado relativos a la masa corporal (ml/kg·min).

- *Rendimiento académico.* En los estudiantes de primaria y secundaria se utilizó la nota promedio de matemáticas y lenguaje del 1° semestre del curso actual como medida del rendimiento académico. Esta nota promedio puede tomar valores de 1,0 a 7,0, siendo 4,0 la nota aprobatoria. En los estudiantes universitarios se utilizó el porcentaje de asignaturas aprobadas ((asignaturas aprobadas/asignaturas matriculadas)\* 100 como medida del rendimiento académico.
- *Variables psicológicas.* Los participantes respondieron tres cuestionarios. *La escala de ansiedad infantil de Spence (SCAS)* evalúa la sintomatología ansiosa en niños y adolescentes. Contiene 44 ítems, divididos en 6 sub-escalas: ansiedad de separación, ataques de pánico y agorafobia, fobia social, miedo al daño físico, trastorno obsesivo compulsivo y ansiedad generalizada. Se responde con una escala de Likert (0= nunca, 1=a veces, 2=a menudo, 3= siempre). Un puntaje alto indica alta ansiedad. Se utilizó la versión adaptada al español (Godoy et al 2011). El test fue elegido por su consistencia interna y por ser capaz de distinguir entre muestras con desordenes de ansiedad y no clínicas (Whiteside et al 2008). *La Escala de autoestima de Rosenberg (RSES)* evalúa autoestima en adolescentes. Se usó la versión traducida en español por Martín-Albo J (2007) (Martín-Albo et al 2007). La RSES comprende 10 ítems, 5 de las cuales están planteadas en positivo y 5 en negativo haciendo referencia al auto-respeto y auto-aceptación. Es una escala de Likert de 4 puntos donde 1=total desacuerdo y 4=total acuerdo. El puntaje total va de 10 a 40 puntos y ha sido valida tanto para población psicopatológica como para población no clínica (Vasquez-Morejon et al 2004). *Inventario breve de depresión infantil (CDI-S):* Este inventario fue diseñado por Kovacs (1992) para evaluar sintomatología depresiva en adolescentes y niños. Se utilizó la versión traducida al español por del Barrio (2002). Al igual que la versión completa fue validada para niños y

adolescentes (Algaier et al 2012). El CDI-S consta de 10 ítems, usa una escala de 3 puntos indicando ausencia, presencia mediana o presencia definitiva de sintomatología depresiva. El puntaje total va de 0-20 puntos, y aun cuando hay puntos de corte para hombres y mujeres, sobre 7 denota riesgo de desarrollar depresión (del Barrio et al 2002).

- *Hábitos de salud.* En el estudio 2A se evaluaron los hábitos de alimentación y de actividad física, mediante cuestionarios de auto-relleno que fueron respondidos por los padres o tutores legales de los participantes.
  - a. *Cuestionario de hábitos de alimentación:* Evalúa los hábitos en categorías alimentarias de desayuno, almuerzo/cena, merienda y snack. Los alimentos ricos en grasa y azúcar se ponderaron como no saludables, los alimentos elaborados con menos grasa como regulares y los alimentos ricos en fibra y bajos en grasas saturadas y/o azúcares como saludables. Se contabilizó el consumo de comidas no saludables (Burrow et al 2008).
  - b. *Cuestionario de hábitos de actividad de física:* Este cuestionario del Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos de Chile (INTA) mide los hábitos de actividad física. Sólo se utilizó la categoría de actividades físicas sistemáticas semanales (clases de educación física y deportes) divididas en menos de 2 horas de práctica, entre 2 y 4 horas y más de 4 horas (Godard et al 2008).

## Resultados de la segunda parte

### Parte 2A:

**ESTADO NUTRICIONAL, CONDICIÓN FÍSICA, RENDIMIENTO ESCOLAR, NIVEL DE ANSIEDAD Y HÁBITOS DE SALUD EN ESTUDIANTES DE PRIMARIA DE LA PROVINCIA DEL BIO BÍO (CHILE): ESTUDIO TRANSVERSAL. NUTRITIONAL STATUS, FITNESS, SCHOOL PERFORMANCE, ANXIETY LEVEL AND HEALTH HABITS IN PRIMARY SCHOOL IN THE PROVINCE OF BIO BÍO (CHILE): CROSS-SECTIONAL STUDY.**

Igor Cigarroa Cuevas<sup>1,2a</sup>, Carla Sarqui<sup>1b</sup>, Danila Palma<sup>1b</sup>, Nicole Figueroa<sup>3c</sup>, María Paz Castillo<sup>4d</sup>, Rafael Zapata-Lamana<sup>3e</sup>, Rosa María Escorihuela<sup>2f</sup>

<sup>1</sup>Carrera de Kinesiología, Facultad de Salud, Universidad Santo Tomás, Los Ángeles, Chile.

<sup>2</sup> Institut de Neurociències, Departament de Psiquiatria i Medicina Legal, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España.

<sup>3</sup>Escuela de Educación, Universidad de Concepción, Los Ángeles, Chile.

<sup>4</sup>Departamento de Educación Municipal Laja, Chile.

<sup>a</sup> Investigador y Académico de la Facultad de Salud, carrera de Kinesiología, UST sede Los Ángeles, Chile

<sup>b</sup>Kinesióloga

<sup>c</sup>Educadora Básica

<sup>d</sup>Nutricionista

<sup>e</sup> Investigador y Académico Escuela de Educación Universidad de Concepción.

<sup>f</sup> Investigador y Académico Departament de Psiquiatria i Medicina Legal, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España.

El autor Igor Cigarroa Cuevas fue apoyado por la beca de Perfeccionamiento Académico de la Universidad Santo Tomás (Chile) por el tiempo que demoró realizar esta investigación, además este trabajo fue apoyado por CONYCYT/BECA CHILE/PAI 72150035.

Autor de correspondencia: Igor Cigarroa Cuevas, móvil: +34-696506930, España

Correo electrónico: [icigarroa@santotomas.cl](mailto:icigarroa@santotomas.cl) o [igorcigarroa@yahoo.es](mailto:igorcigarroa@yahoo.es)

## RESUMEN

En los últimos años, la obesidad ha aumentado y ello se ha asociado a una disminución de la condición física, problemas psicológicos y un bajo rendimiento escolar. El objetivo fue describir el estado nutricional, la condición física, el rendimiento escolar, el nivel de ansiedad y los hábitos de salud en escolares de enseñanza básica (6-7 años), además evaluar las diferencias entre sobrepesos/obesos y normopesos. Se realizaron dos estudios (n=276) en escolares de 1º y 2º año básico. En ambos estudios, se obtuvieron parámetros antropométricos, se evaluó la condición física y se analizó el rendimiento académico utilizando el promedio de matemáticas y lenguaje. Además, en el 1º estudio se midió el perímetro de cintura (PC) y en el 2º hábitos de salud y la sintomatología ansiosa. Niños y niñas presentaron altos niveles de sobrepeso y obesidad. Quienes poseían mayores niveles de IMC/edad tenían peor condición física, mayor PC, dedicaron menos horas semanales a actividad física sistemática, comieron más alimentos no saludables. No se obtuvieron diferencias en rendimiento académico. Curiosamente, las niñas con sobrepeso/obesidad presentaron menores niveles de ansiedad que las niñas con normopeso. Si bien estos resultados revelen el actual estado nutricional, condición física, académica y mental de escolares de enseñanza básica, se necesitan más estudios para confirmar el alto grado de obesidad y sobrepeso detectado. Los menores niveles de ansiedad que mostraron las niñas con sobrepeso/obesidad se discuten en base a los resultados opuestos descritos en edades superiores y en estudios en animales. **Palabras clave:** Estado nutricional, educación básica, rendimiento escolar, conductas saludables, aptitud física, salud mental

## SUMMARY

In recent years, obesity were increased and their presence has been associated with poor physical condition, psychological problems and poor school performance. Aim was to describe nutritional status, physical condition, school performance, anxiety level and health habits in primary school children (6-7 years old). Also, to determine the differences among overweight/obese and normal weight groups. Two studies (n=276) were conducted in 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> grade schoolers. Anthropometric parameters were obtained in schoolers, physical fitness, and academic performance using the grade point average (GPA) of mathematics and language were assessed. In addition, in the first study waist circumference were measured and in the 2<sup>nd</sup> one health habits and anxiety symptoms were obtained. Boys and girls had high levels of overweight and obesity. Those who had higher levels of BMI/age had worse physical fitness, and higher waist circumference, spent less hours per week in scheduled physical activity, eat more unhealthy foods but they had not lower academic performance. Curiously, overweight/obese girls had lower anxiety symptoms than normal weight. While these results shed light of the current nutritional status, physical, academic and mental condition of children in primary school children, further studies are needed to confirm the high levels of obesity and overweight detected. Lower levels of anxiety that showed girls with overweight / obesity is discussed based on the results described in opposite older ages and animals research. **Key words:** nutritional status, primary education, school performance, health behavior, physical fitness, mental health

## **INTRODUCCIÓN**

En las últimas décadas, Chile ha sufrido un gran cambio demográfico y epidemiológico, que ha provocado un envejecimiento de la población y profundos cambios en su perfil nutricional. En cuanto a los hábitos de alimentación y de actividad física (AF), las familias han reemplazado el consumo de comidas caseras por el de comidas rápidas y de alimentos con alta concentración calórica, grasas saturadas y azúcares (especialmente bebidas gaseosas) (1). Este tipo de alimentación queda muy lejos de las dietas saludables recomendadas (Ministerio de Salud de Chile (Minsal)) que incluyen diariamente 5 raciones de verduras y frutas de colores distintos, legumbres y pescados al menos 2 veces por semana (2). Según los resultados de la Encuesta Nacional de consumo alimentario el 95% de la población chilena no tiene una alimentación saludable (3). Además, cerca del 80% de la población no realiza AF regularmente (proporción mayor en mujeres) y los niños solo realizan la actividad asociada a la materia de educación física en la escuela, lo cual queda muy alejado del tiempo mínimo de 60 minutos diarios de AF recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para niños de 5-17 años (4). Con todo esto, tenemos una población sedentaria, que ha aumentado la prevalencia de malnutrición por exceso (sobrepeso y obesidad) y las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNTs). En la actualidad, Chile es el 6° país miembro con mayor malnutrición por exceso en menores de 6 años (34,4% hombres y 33,7% mujeres) (5). A partir de esta edad, la prevalencia de malnutrición por exceso sufre un alza importante, llegando en escolares de 1° año básico a un 53,7% en niñas y un 53% en niños. Esta prevalencia es relativamente similar por género y aumenta ligeramente en la zona sur del país (6). La obesidad escolar está asociada a la obesidad adulta. Los niños y niñas tienen 5 y 9, respectivamente veces más posibilidades de convertirse en adultos obesos que los niños y niñas con normopeso (7). Las principales consecuencias de un escolar con malnutrición por exceso son la presencia de factores de riesgo cardiovascular, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina (8). La obesidad también se asocia a hipoactividad, condición física baja, problemas psicológicos incluyendo sintomatología depresiva o ansiedad (9). Estudios previos han examinado la relación entre obesidad infantil y rendimiento académico (puntajes en test de matemáticas y lenguaje). Datar et al. (2004) en una muestra representativa de más de 11.000 niños y niñas estadounidenses (4-5 años) detectaron que los niños con sobrepeso tenían puntajes más bajos en los test estandarizados de matemática y lenguaje que los niños con peso normal (10). Resultados similares comienzan a aparecer en muestras representativas de la población chilena al estudiar la relación entre la malnutrición por exceso, hábitos de salud y el rendimiento académico medido con tests estandarizados (11). Sin embargo, son menos los estudios que analizan la

relación entre el estado nutricional y la salud mental en edades infantiles. Al día de hoy, según la bibliografía revisada, no tenemos conocimiento de ningún estudio previo en donde se analice esta relación en estudiantes de 1° y 2° año de enseñanza básica. Sobre la base de lo expuesto se aportan dos estudios. El primero, tiene como objetivo analizar el estado nutricional, el rendimiento escolar y la condición física en niños y niñas con normopeso y con malnutrición por exceso de 1° y 2° año básico y el segundo tiene como objetivo confirmar los resultados del estudio y establecer la relación de los parámetros nutricionales con variables de rendimiento escolar y condición física y además, evaluar variables de salud mental, hábitos de ingesta alimentaria y actividad física.

## **MATERIALES Y MÉTODO**

**1° Estudio: Participantes:** 478 escolares (248 niños y 230 niñas) de 4-6 años de 1° y 2° año básico de tres centros educativos públicos de una comuna urbana de la provincia del Biobío (Chile) fueron autorizados por sus tutores para participar en el estudio. Los criterios de inclusión fueron: estudiantes con peso normal, sobrepeso u obesidad (no bajo peso u obesos mórbidos). Los criterios de exclusión fueron: estudiantes con patologías neurológicas, osteo-articulares, cardio-respiratorias, metabólicas o tumorales que pudieran interferir en la evaluación de la condición física o que alteraran su peso, apetito o rendimiento académico e inasistencia a las evaluaciones. Se excluyeron 260 escolares. Así, la muestra se constituyó por 218 (114 niños y 104 niñas) (Tabla I). En ambos estudios los padres de los participantes informaron la edad y el lugar de procedencia. La distribución según sexo fue similar en ambos estudios a valores de encuestas nacionales (51% niños y 49% niñas), no así el área de residencia (13% área rural y 87% área urbana) encontrando una mayor porcentaje de niños con residencia rural (22,9% en el 1° estudio y un 15,5% en el 2°)

**Evaluación antropométrica:** El peso se obtuvo con una balanza (SECA®, Modelo 713, USA) de una precisión de 0.2 kg y la talla con un cartabón de pared de una precisión de 0.1cm. La obesidad abdominal se midió a través del perímetro de cintura (PC) con una cinta métrica colocada a la altura de la cresta ilíaca. El índice de masa corporal se corrigió por el grado de maduración de Tanner ((IMC)/edad), la talla/edad y el PC/edad se calcularon según las curvas del Center for Disease Control and Prevention (CDC/NCHS) utilizadas en Chile para la evaluación nutricional de niños de 0-9 años (12).

**Evaluación de la condición física:** Se utilizó el test de sentarse y pararse. Es una de las pruebas más usadas en baterías de tests nacionales e internacionales en niños y adolescentes para medir fuerza muscular de miembros inferiores (13,14). El estudiante

debía sentarse y pararse en una silla, sin la ayuda de los brazos, el mayor número de veces que pueda durante 30 s. Las evaluaciones se hicieron en una sala del centro educativo.

**Evaluación del rendimiento escolar:** Se midió tomando las notas promedio del 1º semestre del curso actual obtenidas por los niños (as) en las asignaturas de matemáticas y lenguaje. Los promedios van de 1,0 a 7,0, donde 4,0 es la nota aprobatoria.

**Análisis estadístico:** La muestra se dividió por cursos (en el estudio 1) y se generaron 4 grupos por estado nutricional y género: niños-normopeso (h-np), niños-sobrepeso/obesidad (h-spo), niñas-normopeso (m-np), niñas-sobrepeso/obesidad (m-spo). Las variables se expresaron en media  $\pm$  error estándar de la media y los indicadores del estado nutricional en porcentaje. Los datos se analizaron utilizando el programa SPSS (v.19.0, SPSS Inc., USA). La distribución normal de los datos se midió con el test de K-S. Para comparaciones de variables paramétricas entre dos grupos se utilizó la prueba t de student y cuando se compararon más de dos grupos se utilizó un anova de dos vías y post hoc de Duncan. Para la comparación entre variables categóricas fue utilizado el test chi-cuadrado. En el caso de las variables no paramétricas, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney en la comparación de dos grupos y la prueba H de Kruskal-Walis para comparar más de dos grupos. Para la asociación entre las variables se utilizó la correlación de Pearson o Spearman. El nivel de significancia empleado fue de  $p \leq 0,05$ .

**Comité de ética:** El 1º y 2º estudio fueron aprobados por el comité de ética de la Universidad Santo Tomás, Los Ángeles (Chile) y ambos se realizaron previa firma de cartas de consentimiento. Todos los procedimientos siguieron los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos según la declaración de Helsinki actualizada en la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil (2013).

**RESULTADOS 1º ESTUDIO:** Los niños (6,5 años) y niñas (6,6 años) tenían un IMC/edad que se encontraban en el rango de obesidad y sobrepeso respectivamente. El 59,2% presentó malnutrición por exceso, de los cuales, 24,3% tenía sobrepeso (23,7% niños y 25,0% niñas) y el 34,9% eran obesos (36,0% niños y 33,7% niñas). En relación a la talla/edad los niños y niñas se encontraban en el rango de talla normal para su edad. Solo el 1% de las niñas presentó talla baja con respecto a la edad. De acuerdo al perímetro de cintura/edad ambos sexos presentaron una media menor al p90 (64,4), lo que indicó bajo riesgo cardiovascular en la adultez. Pese a esto, un 14% de niños y un 9,6% de niñas mostraron un PC mayor a p90 (Tabla I). El análisis de la varianza

mostró efectos significativos del estado nutricional en 1º año básico en el PC. Niños y niñas normopeso mostraron significativamente menos PC que los grupos sobrepeso/obesidad. El grupo h-spo estuvo muy cerca del p90. En relación a la condición física, el grupo h-spo realizó menos cantidad de repeticiones en el test de sentarse y pararse que todos los otros grupos. Con respecto al rendimiento académico, no se observaron diferencias entre los grupos (Tabla II). En el 2º año básico, se observó el mismo efecto del estado nutricional sobre el PC que en el 1º año básico. Los escolares normopeso de ambos sexos presentaron menos PC que los grupos sobrepeso/obesidad. En relación al test sentarse pararse, los grupos h-spo y m-spo tuvieron un peor rendimiento comparado con los niños y niñas con normopeso. En relación a las variables de rendimiento académico, tampoco se observaron diferencias dadas por género o por estado nutricional (Tabla II).

El análisis de correlaciones reveló que independiente del género, el bajo rendimiento en el test de sentarse pararse se asoció con un valor alto de IMC ( $r = -,264$ ,  $p = ,005$  niños y  $r = -,436$ ,  $p = ,000$  en niñas) y de PC ( $r = -,272$ ,  $p = ,004$  niños y  $r = -,496$ ,  $p = ,000$  niñas). Sólo en las niñas se observó una asociación débil entre el bajo rendimiento en el test de condición física y un bajo rendimiento académico en matemáticas ( $r = ,197$ ,  $p = ,046$ ).

**2º Estudio: Participantes:** 72 escolares (43 niños y 29 niñas) de entre 6-7 años de 1º año básico de 2 centros educativos públicos de la misma comuna que el estudio 1. Se usaron los mismos criterios de inclusión y exclusión que el estudio 1. Se excluyeron 14 escolares. Así, la muestra final quedó en 58 escolares (37 hombres y 21 mujeres) (Tabla I).

**Evaluación antropométrica y del rendimiento escolar:** Se realizaron las mismas evaluaciones que el estudio 1, excepto la medición de PC.

**Evaluación de la condición física:** 1) *Salto horizontal a pies juntos:* Fue medido desde una línea horizontal, se pidió al escolar que saltase lo más lejos que pudiera, a pies juntos y sin impulso previo. Se midió la distancia máxima alcanzada y se expresó en centímetros (cm). Esta prueba es una de las más utilizadas y se considera un índice general de fuerza muscular (15). Además, también se utiliza en el programa Vida Sana del Minsal (Chile) para medir la condición física en la población entre 2-5 años (14). 2) *Carrera de 12 metros:* Se midió el tiempo, expresado en segundos, que tardaba el escolar en recorrer una distancia de 12 metros (m) (16). Los niños se familiarizaron con las pruebas una semana antes de la evaluación, cada prueba se realizó 3 veces y luego se calculó la media.

**Cuestionario de hábitos de ingesta:** Evalúa la calidad de hábitos de ingesta en niños y adolescentes en categorías alimentarias (Desayuno/once, almuerzo/cena, colación y snack). Los alimentos ricos en grasa y azúcar se ponderaron como no saludables, los alimentos normograsos elaborados, se ponderaron como regulares y los alimentos ricos en fibra y bajos en grasas saturadas y/o azúcares se ponderaron como saludables. Se contabilizó el consumo de comidas no saludables (1).

**Cuestionario de hábitos de actividad de física (HAF):** Cuestionario creado por el Instituto de nutrición y tecnología de los alimentos de Chile (INTA). Se utilizó para cuantificar los hábitos de AF de un niño o adolescente durante la semana, incluyendo una variedad de actividades que van de hábitos sedentarios hasta AF sistemática. Se utilizó la categoría de AF sistemática semanal (clases de educación física y deportes), divididas en menos de 2 horas, entre 2 y 4 horas y más de 4 horas (17).

**Escala de ansiedad infantil de Spence (SCAS):** Está formada por 38 ítems y evalúa los trastornos de ansiedad infanto-juvenil más frecuentes, dividiéndolos en 6 sub-escalas. Se responde con una escala de 4 opciones tipo Likert, que va desde 0 (nunca) a 3 (siempre). Se usó la SCAS versión española<sup>18</sup>. Se califica mediante la suma de los puntos obtenidos en cada ítem. A mayor puntaje, más ansiedad. Se escogió esta prueba por su consistencia interna (18). Además, la SCAS ha mostrado que es capaz de distinguir entre muestras con trastornos de ansiedad y muestras no clínicas (19). Los padres o tutores de los niños (as) rellenaron los cuestionarios y la escala de ansiedad. Las evaluaciones se hicieron en las mismas condiciones ambientales que el estudio 1.

**RESULTADOS 2º ESTUDIO:** Se confirmaron los resultados encontrados en el estudio 1. Por un lado, al separar por género, se observó que los niños (6,1 años) y las niñas (5,9 años) tenían un IMC/edad de sobrepeso. El 41,7% de los escolares presentó malnutrición por exceso, de los cuales 15,5% tenían sobrepeso (10,8% en niños y 23,8% en niñas) y 36,2% obesidad (32,4% niños y 38,1% niñas). No se encontraron diferencias en las variables nutricionales por género. En relación a la talla, ambos géneros presentaron una altura correspondiente a la talla normal en relación a la edad (1,22 hombres y 1,21 mujeres), ningún escolar presentó talla baja. El análisis de la varianza mostró efectos significativos del género y del estado nutricional en el test de condición física salto horizontal a pies juntos. Los escolares con sobrepeso/obesidad, principalmente las niñas, saltaron distancias más cortas que los escolares con normopeso. No se encontraron diferencias de género o del estado nutricional en el rendimiento académico y en los niveles de ansiedad. Cuando se hizo una análisis más detallado, se observó que los grupos normopeso tuvieron una tendencia a presentar

mayores puntajes en el test de ansiedad que los grupos con sobrepeso/obesidad (significativo en la categoría ataques de pánico y agorafobia y trastorno de ansiedad y separación y puntaje total). En particular, las niñas del grupo n-np presentaron un puntaje total mayor que las niñas del grupo n-spo ( $p=,065$ ). El consumo de alimentos no saludables fue significativamente mayor en los niños con sobrepeso/obesidad en la categoría almuerzo/cena y en las niñas con sobrepeso/obesidad en la categoría snack en relación a los grupos normopeso. Ningún grupo realizó más de 4 horas semanales de AF sistemática, aunque un mayor porcentaje de escolares normopeso de ambos sexos declaró realizar entre 2 y 4 horas semanales de AF sistemática (Tabla III). El análisis de correlación mostró que en las niñas, los altos puntajes en la escala de ansiedad infantil (SCAS) (mayor ansiedad) se asociaron con bajos puntajes en matemáticas ( $r=-,633$ ,  $p=0,004$ ) y lenguaje ( $r=-,488$ ,  $p=0,034$ ).

## DISCUSIÓN

Los porcentajes de malnutrición por exceso sobrepasaron en niños y niñas en el estudio 1 y en niñas en el estudio 2 a los porcentajes de normopeso (Tabla I). En ambos estudios, y para ambos sexos, la prevalencia de obesidad fue mayor que la de sobrepeso, superando la prevalencia nacional (28,3% en hombres y 22,3% en mujeres). Valores similares de malnutrición por exceso ya habían sido descritos en estudios chilenos en población con edad y zona de residencia similar (27,0% sobrepeso y 39,9% obesidad) (20) y son considerablemente más altos a los porcentajes descritos en Argentina (17,9% sobrepeso y 16,7% obesidad) (21) y Bolivia (29,6% sobrepeso y 4,9% obesidad) (22). Los datos no revelaron diferencias de IMC/edad entre género, en concordancia con las estadísticas nacionales (3,4). En relación a la talla/edad, los resultados indicaron un bajo porcentaje de niños y niñas con baja talla respecto a valores de referencia nacional (2,4% hombres y 2,9% mujeres). El marcado incremento de la obesidad y sobrepeso en los 5 y 6 años podría asociarse a lo que se conoce como el “rebote de adiposidad”. Este fenómeno se refiere al aumento normal del IMC, después que el niño(a) ha alcanzado el menor punto de adiposidad, normalmente a los 6-7 años (23), asociándose a obesidad y síndrome metabólico en la adultez cuando se da precozmente (24). Otros factores podrían explicar en parte los altos porcentajes de malnutrición por exceso encontrados en nuestra muestra. Por un lado, se ha observado que en áreas urbanas hay un menor porcentaje de malnutrición por exceso en comparación con áreas rurales, considerándose el área urbana un factor protector. Por otro lado, las encuestas nacionales indican que hay mayor prevalencia de obesidad en la zona sur del país, principalmente debido al clima frío y húmedo que propicia consumo de alimentos con mayor densidad calórica y a permanecer más tiempo dentro de las

casas. El estudio se hizo en 2 ciudades del sur del país (VIII región), con un porcentaje de residencia rural mayor a la media nacional (25).

La condición física, en particular la capacidad aeróbica y la fuerza muscular se consideran importantes marcadores relacionados con la salud en la infancia (26). En el presente estudio hemos abordado la relación entre el estado nutricional medido por IMC y la condición física medida a través de tests de campo, basándonos en los test utilizados en el programa del Gobierno de Chile “*Vida Sana*” (14). En la prueba de salto longitudinal se observaron diferencias entre género y entre estado nutricional. Las niñas con sobrepeso/obesidad saltaron distancias más cortas que los otros grupos, en concordancia con otros estudios en niños y adolescentes (27,28). En esta línea, Castro-Piñero et al. (2009) compararon el rendimiento en diferentes pruebas de fuerza muscular (salto longitudinal y vertical) en escolares de 6-17 años (n=2778) encontrando que los grupos normopeso presentaron un mejor rendimiento que los grupos con sobrepeso/obesidad (28). En nuestro estudio, los grupos con mayor IMC también presentaron peor rendimiento en el test sentarse pararse en comparación con los grupos normopeso, principalmente en las niñas que hicieron como media un 14% menos de repeticiones, en concordancia con estudios previos. Aun cuando se ha mostrado que las personas con obesidad pueden llegar a tener la misma cantidad de fuerza que las personas con peso normal para pararse una vez estando sentados, la menor cantidad de repeticiones realizadas y menor velocidad en el flexo-extensión de rodillas por parte de los grupos sobrepeso/obesidad, reflejó que la capacidad funcional de las extremidades inferiores fue menor a los grupos normopeso (29). En la prueba de carrera de 12 metros, al contrario que en las dos pruebas anteriores, los resultados no mostraron diferencias entre género o estado nutricional. Aun cuando los niños con sobrepeso/obesidad fueron un 3,7% más lentos que los niños de peso normal y las niñas con sobrepeso/obesidad fueron un 3,1% más lentas que las niñas con peso normal. Se ha sugerido que los niños obesos tienen diferencias cinemáticas en la marcha, especialmente en la carrera, comparada con niños normopeso, mostrando menor cadencia de pasos y velocidad (15). Es probable que en nuestro estudio la carrera de 12 metros no fuera una distancia suficientemente larga para detectar estas diferencias, de manera que los niños con IMC más alto pudieron mantener velocidades similares a los niños con normopeso durante aquella distancia. Estudios realizados en carreras más largas si han encontrado diferencias por estado nutricional y por género. Por ejemplo, un estudio (n=216 escolares; 8-11 años) mostró que los escolares que poseían niveles superiores de condición física en el *course Navette* y carrera de 4x10 m presentaban una mayor tendencia a un estatus de peso corporal normal (30).

El estudio de la relación entre el estado nutricional y el rendimiento académico en la infancia es un área emergente y con divergencias. Liang et al (2014) hicieron una revisión de artículos desde 1976 al 2013 en las principales bases de datos médicas con el objetivo de determinar la relación entre obesidad, conductas relacionadas con la obesidad y funciones neurocognitivas en niños y adolescentes. Encontraron 77 artículos que cumplieron los criterios de inclusión metodológicos. De los cuales, solo 4 asociaban negativamente la obesidad y el bajo rendimiento escolar (entre edades de 7 a 11 años) A modo de ejemplo, Castelli et al. (2007) encontraron una asociación inversa entre IMC y puntajes en test estandarizados de matemática y lenguaje en una muestra de 259 niños y niñas ( $9,5 \pm 0,7$  años), y hubo 3 estudios en donde no se encontró una relación (en niños de 6-12 años) (31). Según los autores, los resultados no concluyentes pueden deberse a las diferentes metodologías empleadas entre los estudios, a los diferentes tipos de test administrados, a posibles factores de confusión no controlados (edad, género, etnias, conductas saludables y comorbilidades) y a diferencias en los puntajes de corte para determinar el estado nutricional (31). En nuestra investigación, no se encontraron diferencias en el rendimiento académico entre grupos de diferente estado nutricional o género. Las medias de matemáticas y lenguaje fueron altas en todos los grupos (cerca al 6,0 en una escala de 1,0 a 7,0) comparadas con las medias nacionales de centros educativos públicos (5,6), por lo que encontrar diferencias debido a un efecto techo, era poco probable; además, no se controlaron comorbilidades.

Por otra parte en Chile, se ha comenzado a estudiar la relación entre los hábitos de salud y el rendimiento escolar. En un estudio con escolares de 5º a 9º grado ( $n=1271$ ; de 10-15 años) se determinó que quienes realizaban más de 4 horas de AF sistemática tenían más del doble de posibilidades de estar dentro de los puntajes más altos de test estandarizados nacionales de matemática y lenguaje ( $\geq$  percentil 75 (OR: 2.1, 95% IC: 1.3-3.3) (32). En otro estudio, Correa-Burrow et al. (2015) en escolares ( $n=1073$ ) con una media de 13.1 años determinaron que quienes comían snack menos saludables tenían peor rendimiento en test estandarizados de matemática y lenguaje (11). En Chile, los snack no saludables más populares son los productos de pastelería, chocolates y golosinas que poseen altos niveles de azúcar, grasas saturadas y carbohidratos. Estudios previos hechos en animales sugieren que este tipo de alimentos mejoran el humor, disminuyen el estrés y controlan los síntomas de ansiedad (33). Este fenómeno fue descrito por Dallman et al. (2005) como la auto-medicación con alimentos (34). Los grupos sobrepeso/obesidad declararon tener un mayor consumo de comidas no saludables con respecto a los grupos normopeso. En particular, el grupo m-spo consumió más snack no saludables que el grupo m-np, hecho que podría estar asociado

a que las niñas del grupo m-spo tuvieron menores puntajes en la escala de ansiedad infantil (SCAS) con respecto a las niñas con normopeso. Los puntajes totales y de las subescalas de todos los grupos, superaron los valores de referencia para la población infantil y adolescente (22,81 para hombres y 27,51 para mujeres) (18) situación que no deja de ser preocupante, pensando en la corta edad de nuestra muestra. No se encontraron diferencias en los niveles de ansiedad entre niños y niñas, hecho que contrasta con la mayoría de la literatura (35). Una explicación posible es que los mayores niveles de ansiedad de las niñas con respecto a los niños se han encontrado alrededor de la pubertad cuando existe mayor presión social y familiar por tener un peso normal y perderlo si se ha ganado (36). Los grupos con peso normal, principalmente las niñas presentaron niveles de ansiedad mayores a los grupos sobrepeso/obesidad, hecho que también es divergente con estudios en humanos que han encontrado una asociación entre obesidad y patrones de consumo no saludables con altos niveles de ansiedad (37). Esto podría deberse a que las investigaciones que han detectado mayores niveles de ansiedad evaluaron mujeres adolescentes en tratamiento para bajar peso o adolescentes con diagnóstico de ansiedad generalizada o depresión mayor (38). En la misma línea, la ansiedad generada en la obesidad infantil podría ser explicada, en parte por la insatisfacción con la imagen corporal, hecho que se acrecienta en la pubertad y no es tan marcado en edades tan tempranas como las evaluadas en nuestro estudio (39). Hasta la fecha no se encontraron estudios nacionales para comparar nuestros resultados, siendo el primero que estudia la relación entre los niveles de ansiedad y el estado nutricional de escolares tan jóvenes. En conclusión, niños (as) presentan altos niveles de malnutrición por exceso. Quienes presentaron mayores niveles de IMC/edad tenían peor condición física, un mayor perímetro de cintura, dedicaban menos horas semanales a realizar AF, comían más alimentos no saludables, pero no presentaron menor rendimiento académico. En particular, se observó que las niñas del grupo m-spo presentaron menores niveles de ansiedad. En espera de futuros estudios, los resultados obtenidos podrían darnos luces del actual estado nutricional, de los hábitos de salud, de la condición física, académica y mental de las escolares de la provincia del Biobío, Chile.

## **REFERENCIAS**

1. Burrows R, Díaz E, Sciaraffia V, Gattas V, Montoya A, Lera L. Dietary intake and physical activity in school age children. Rev Med Chile 2008; 136: 53-63.
2. Crovetto M, Uauy R. Changes in household food and nutrient consumption in Metropolitan Santiago 1988-97 by income. Rev Med. Chile 2010; 138:1091-1108.

3. Ministerio de Salud de Chile. Encuesta de consumo alimentario en Chile. ENCA. Santiago, Chile. 2014. [Disponible en: [http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA-INFORME\\_FINAL.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA-INFORME_FINAL.pdf)] [Consulta: 22 de marzo 2015].
4. Minsal, Chile. PUC, UAU. Encuesta Nacional de Salud 2009-2010. Santiago, Chile. [Disponible: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>] [Consulta: 22 de enero 2015].
5. OECD, Overweight and obesity among children, in Health at a Glance 2015: OECD Indicators, OECD Publishing, Paris. Francia. [Disponible en: [http://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2015\\_health\\_glance-2015-en](http://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2015_health_glance-2015-en)] [Consulta: 02 de febrero 2016].
6. Atalah E. Epidemiology of obesity in Chile. Rev Med Clin Condes. 2012;23(2):117-123.
7. Venn AJ. Overweight and obesity from childhood to adulthood: a follow-up of participants in the 1985 Australian schools health and fitness survey. Med J Aust 2007; 186:458-460.
8. Centers for disease control and prevention (CDC). Overweight and obesity. [Disponible en: <http://www.cdc.gov/obesity/index.html>] [Consulta: 02 de febrero 2016].
9. Zametkin AJ, Zoon CK, Klein HW, Munson S. Psychiatric aspect of child and adolescents obesity: a review of the past 10 years. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry. 2004; 43(2): 134-150.
10. Datar A, Sturm R, Magnabosco J. Childhood overweight and academic performance: national study of kindergarteners and first-grades. Obes Res. 2004; 12:58-68.
11. Correa-Burrow P, Burrows R, Orellana Y, Ivanovic D. The relation between a healthy snack at school and academic outcomes: A population study in Chilean schoolchildren. Public Health Nutr 2015; 18(11):2022-2030.
12. Minsal, Chile. Normas técnicas para la supervisión de niños y niñas de 0 a 9 años en la atención primaria de salud. Programa nacional de salud de la infancia. 2014. Santiago, Chile. [Disponible en: <http://web.minsal.cl/salud-infantil/>] [Acceso: 02 de febrero 2016].
13. Castro-Piñero J, Artero EG, España-Romero V, Ortega FB, Sjörström M, Ruiz JR. Criterion-related validity of field-based fitness test in young: a systematic review. Br J Sport Med. 2010;44(13):934-943.
14. Minsal, Chile. Programa vida sana prevención de ENTs- Atención primaria: Orientaciones y lineamientos programa vida sana. 2015. Santiago, Chile. [Disponible

en: [http://www.gob.cl/cuenta-publica/2015/sectorial/2015\\_sectorial\\_ministerio-salud.pdf](http://www.gob.cl/cuenta-publica/2015/sectorial/2015_sectorial_ministerio-salud.pdf) [Consulta: 02 de febrero 2016].

15. Castro-Piñero J, Ortega FB, Artero EG, Girela Rejón MJ, Mora J, Sjöström M et al. Assessing muscular strength in youth: usefulness of standing long jump as a general index of muscular fitness. *J Strength Cond Res* 2010b;24(7):1810-1817.
16. Monsalves-Alvarez M, Castro-Sepúlveda M, Zapata-Lamana R, Rosales-Soto G, Salazar Rodriguez G. Motor skills and nutritional status outcomes from a physical activity intervention in short breaks on preschool children conducted by their educators: a pilot study. *Nutr Hosp*. 2015;32(4):1576-1581.
17. Godard CM, Rodriguez M, Díaz N, Lera L, Salazar G, Burrow R. Value of a clinical test for assessing physical activity in children. *Rev Med Chile* 2008; 136: 1155-1162.
18. Godoy A, Gavino A, Carrillo F, Cobos MP, Quintero C. Factor structure of the Spanish version of the Spence Children Anxiety Scale (SCAS). *Psicothema* 2011. Vol 23; (2):289-294.
19. Whiteside SP, Brown AM. Exploring the utility of Spence children's anxiety scales parent-and child-report forms in a North American sample. *J Anxiety Disord* 2008. 22; 1440-46.
20. Espinoza-Silva M, Aguilar-Farías N. Nutritional status and physical capacity in 4 to 7-year-old students in a Chilean public school 2014. *Nutr Hosp*. 2015; 32(1):69-74.
21. Szera G, Kovalskysa I, deGregorio MJ. Prevalence of overweight and obesity, and their relation to high blood pressure and central adiposity in students. *Arch Argent Pediatr*. 2010;108 (6):492-498.
22. Masuet-Aumatell C, Ramon-Torrell JM, Banqué-Navarro M, Dávalos-Gamboa M, Montaña-Rodríguez SL. Prevalence of overweight and obesity in children and adolescents from Cochabamba (Bolivia); a cross-sectional study. *Nutr Hosp*. 2013. 28(6):1884-1891.
23. Roland-Cachera M, Deheeger M, Maillot M, Bellisle F. Early adiposity rebound: causes and consequences for obesity in child and adults. *Int Obes* 2006; S4; S11-7.
24. Koyama S, Ichikawa G, Kojima M, Shimura N, Sairenchi T et al. Adiposity rebound and the development of metabolic syndrome. *Pediatric* 2014;133(1);e114-119.
25. Minsal, Chile. Diagnóstico del estado nutricional de menores de 6 años, gestantes, nodrizas y adultos mayores, bajo control en el sistema público de salud. Santiago, Chile. 2013. [Disponible en: [http://web.minsal.cl/sites/default/files/DIAGNOSTICO\\_ESTADO\\_NUTRICIONAL\\_DI\\_CIEMBRE\\_2013.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/DIAGNOSTICO_ESTADO_NUTRICIONAL_DI_CIEMBRE_2013.pdf)] [Consulta: 02 de febrero 2016].

26. Ortega FB, Ruiz JR, Castillo MJ. Physical activity, physical fitness, and overweight in children and adolescents: evidence from epidemiologic studies. *Endocrinol Nutr.* 2013;60(8):458-469.
27. Delgado P, Caamaño F, Cresp M, Osorio A, Cofre A. Nutritional condition of schoolchildren and their association with levels of fitness and cardiovascular risk factors. *Nutr Hosp* 2015; 32(3):1036-1041.
28. Castro-Piñero J, González-Montecinos JL, Mora J, Keating XD, Girela-Rejón MJ, Sjöström M et al. Percentile values for muscular strength field test in children aged 6 to 17 years: Influence of weight status. *J Strength Cond Res* 2009;23(8):2295-2310.
29. Pataky Z, Armand S, Müller-Pinget S, Golay A, Allet L. Effects of obesity on functional capacity. *Obesity* 2014 22(1) 56-62.
30. Gálvez A, Rodríguez PL, Rosa A, Garcia-Cantó E, Perez JJ, Tárraga ML, et al. Physical fitness level and its relationship with body weight status in school children. *Nutr Hosp.* 2015; 31(1):393-400.
31. Liang J, Matheson B, Kaye W, Boutelle K. Neurocognitive correlates of obesity and obesity-related behaviours in children and adolescents. *Int J Obes* 2014;38(4) 494-506.
32. Burrows R, Correa-Burrow P, Orellana Y, Almagia A, Lizana P, Ivanovic D. Scheduled physical activity is associated with better academic performance in Chilean school-age children. *J Phys Act Health* 2014.11;(8):1600-1606.
33. Lanza JF, Caimari A, del Bas JM, Torregrosa D, Cigarroa I, Pallàs M, et al. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. *PLoS One.* 2014. 9(1): e85049.
34. Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun* 2005; 19:275-280.
35. Zhao J, Xing X, Wang M. Psychometric properties of the Spence Children's Anxiety Scale (SCAS) in Mainland Chinese children and adolescents. *J Anxiety Disord* 2012;26:728-736.
36. Eresmis S, Cetin N, Amar M, Bukusoglu N, Akdeniz F, Goksen D. Is obesity a risk for psychopathology among adolescents? *Pediatr Int* 2004;46:296-301.
37. Burke NL, Storch EA. A meta-analysis of overweight status and anxiety in children and adolescents. *J Dev Behav Pediatr* 2015;36(3): 133-145.
38. McElroy SL, Kotwal R, Malhotra S, Nelson EB, Keck PE, Nemeroff CB. Are mood disorders and obesity related? A review for the mental health professional. *J Clin Psychiatry.* 2004;65:634-651.

39. Galv3ez A, Rodr3guez P, Guillam3n A, Garc3a-Cant3 E, P3rez-Soto J, Tarraga L, et al. Relationship between body weight status and self-concept in schoolchildren. *Nutr Hosp.* 2015;31(2):730-736.

## Tablas

Tabla 1. Valores descriptivos de las variables antropométricas y el estado nutricional de los estudios 1 y 2.

	Estudio 1 (n=218)			Estudio 2 (n=58)		
	♂ (n=114)	♀ (n=104)	p valor	♂ (n=37)	♀ (n=21)	p valor
<i>Variables antropométricas (media ± ETM)</i>						
Edad (años)	6,5 ±0,58	6,6 ±0,57	n.s	6,1 ±,09	5,9 ±,07	n.s
Peso (kg)	27,95 ±,56	27,66 ±,56	n.s	26,60 ±1,03	26,63 ±1,29	n.s
Talla (m)±	1,22 ±,01	1,22 ±,01	n.s	1,22 ±,01	1,21 ±,01	n.s
Talla/edad (m/años)	,189 ±,002	,186 ±,001	n.s	,20 ±,00	,20 ±,00	n.s
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	18,70 ±,29	18,46 ±,26	n.s	17,76 ±,53	18,14 ±,64	n.s
Perímetro de cintura (cm)	58,46 ±,68	57,18 ±,61	n.s	-----	-----	
<i>Estado nutricional (distribución*)</i>						
			Chi-cuadrado			
Talla/edad (m/años)						
Talla alta (>p95) % (n)	6,1%(7)	5,8%(6)	n.s	13,5%(5)	14,3%(3)	n.s
Talla normal (p5 - p95) % (n)	93,9%(107)	93,3%(97)	n.s	86,5%(32)	85,7%(18)	
Talla baja (<p5) % (n)	0,0%(0)	1,0%(1)		0,0%(0)	0%(0)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )						
Obesidad (p>95) % (n)	36,0%(41)	33,7%(35)	n.s	32,4%(12)	38,1%(8)	n.s
Sobrepeso (p85 - p95) % (n)	23,7%(27)	25,0%(26)		10,8%(4)	23,8%(5)	
Peso normal (p10-p85) % (n)	39,5%(45)	41,3%(43)		56,8%(21)	38,1%(8)	
Bajo peso (<p10) % (n)	0,9%(1)	0,0%(0)		0,0%(0)	0%(0)	
Obesidad abdominal (cm)						
Perímetro de cintura (>p90) % (n)	14%(16)	9,6%(10)	n.s	-----	-----	
Perímetro de cintura (<p90) % (n)	86%(98)	90,4%(94)	n.s	-----	-----	

\*Los valores de referencia dados por las normas técnicas para la supervisión de niños y niñas de 0 a 9 años en la atención primaria de salud. MINSAL<sup>14</sup>.  $p < 0,05$ .

**Tabla 2.** Comparación de grupos dada por género y estado nutricional del estudio 1

1° año básico	h-np (n=24)	h-spo (n=36)	m-np (n=19)	m-spo (n=22)	EN		G	
<i>Variables antropométricas (media ± ETM)</i>					F(1,97)	p	F(1,112)	p
Edad	5,98 ±,05	6,06 ±,07	6,00 ±,05	6,01 ±,04		n.s.		n.s.
Peso (kg)	21,99 ±,48 <sup>a</sup>	30,31 ±,97 <sup>b</sup>	21,81 ±,46 <sup>a</sup>	28,16 ±,86 <sup>b</sup>	72,261	,000		n.s.
Talla (m)	1,17 ±,01	1,20 ±,01	1,17 ±,01	1,19 ±,01	4,982	,028		n.s.
Talla/edad	,197 ±,003	,199 ±,002	,196 ±,003	,198 ±,002		n.s.		n.s.
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	15,92 ±,16 <sup>a</sup>	20,83 ±,50 <sup>b</sup>	15,86 ±,15 <sup>a</sup>	19,80 ±,43 <sup>b</sup>	109,203	,000		n.s.
Perímetro de cintura (cm)	51,96 ±,90 <sup>a</sup>	62,86 ±1,29 <sup>c</sup>	51,68 ±,57 <sup>a</sup>	59,14 ±,98 <sup>b</sup>	63,088	,003		n.s.
<i>Variables de condición física relacionada con la salud (media ± ETM)</i>								
Test de sentarse y pararse	18,08 ±,59 <sup>ab</sup>	16,50 ±,38 <sup>c</sup>	18,68 ±,59 <sup>a</sup>	17,00 ±,59 <sup>bc</sup>	9,468	,003		n.s.
<i>Variables de rendimiento escolar (media ± ETM)</i>								
Promedio de notas de matemática	5,89 ±,16	5,93 ±,11	6,06 ±,18	6,00 ±,17		n.s.		n.s.
Promedio de notas de lenguaje	5,69 ±,18	5,74 ±,14	5,87 ±,23	6,05 ±,17		n.s.		n.s.
2° año básico	h-np (n=22)	h-spo (n=32)	m-np (n=24)	m-spo (n=39)	EN		G	
<i>Variables antropométricas (media ± ETM)</i>					F(1,112)	p	F(1,112)	p
Edad	7,15 ±,10	6,97 ±,05	6,94 ±,09	7,01 ±,06				
Peso (kg)	24,90 ±,49 <sup>a</sup>	31,98 ±,94 <sup>b</sup>	24,34 ±,62 <sup>a</sup>	32,27 ±,81 <sup>b</sup>	79,629	,000		n.s.
Talla (m)	1,23 ±,01 <sup>ab</sup>	1,26 ±,01 <sup>b</sup>	1,22 ±,01 <sup>a</sup>	1,26 ±,01 <sup>b</sup>	8,550	,004		n.s.
Talla/edad	,173 ±,003 <sup>a</sup>	,181 ±,002 <sup>b</sup>	,177 ±,003 <sup>ab</sup>	,180 ±,002 <sup>b</sup>	6,441	,013		n.s.
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	16,30 ±,17 <sup>a</sup>	20,10 ±,43 <sup>b</sup>	16,21 ±,19 <sup>a</sup>	20,35 ±,37 <sup>b</sup>	115,201	,000		n.s.
Perímetro de cintura (cm)	54,10 ±,55 <sup>a</sup>	61,38 ±,94 <sup>b</sup>	52,50 ±,69 <sup>a</sup>	61,64 ±,88 <sup>b</sup>	85,574	,000		n.s.
<i>Variable de condición física relacionada con la salud (media ± ETM)</i>								
Test de sentarse y pararse	18,10 ±,88 <sup>ab</sup>	16,38 ±,58 <sup>b</sup>	19,29 ±,81 <sup>a</sup>	16,36 ±,49 <sup>b</sup>	11,975	,000		n.s.
<i>Variables de rendimiento escolar (media ± ETM)</i>								
Promedio de notas de matemática	6,09 ±,15	6,04 ±,13	6,02 ±,15	5,80 ±,12		n.s.		n.s.
Promedio de notas de lenguaje	5,73 ±,19	5,88 ±,12	5,93 ±,16	5,71 ±,13		n.s.		n.s.

<sup>a,b,c</sup> Las letras fueron utilizadas para hacer comparaciones entre todos los grupos. Anova de dos vías, donde: EN= Estado nutricional, G=Género. h-np=niños normopeso, h-spo=niños sobrepeso/obesidad, m-np=niñas normopeso, m-spo=niñas sobrepeso/obesidad. n=218. p<0,05.

**Tabla 3.** Comparación de grupos dada por género y estado nutricional del estudio 2

	h-np (n=21)	h-spo (n=16)	m-np (n=8)	m-spo (n=13)	EN		G	
					F(1,54)	p	F(1,54)	p
<i>Variables antropométricas (media ± ETM)</i>								
Edad (años)	6 ±0,07	6,1 ±0,18	6 ±0,00	5,85 ±0,10		n.s.		n.s.
Peso (kg)	22,4 ±0,44 <sup>a</sup>	32,1 ±1,38 <sup>b</sup>	21,3 ±0,78 <sup>a</sup>	29,9 ±1,38 <sup>b</sup>	67,102	,000		n.s.
Talla (m)	1,20 ±0,01 <sup>ab</sup>	1,24 ±0,02 <sup>b</sup>	1,18 ±0,01 <sup>a</sup>	1,22 ±0,01 <sup>b</sup>	8,735	,005		n.s.
Talla/edad (m/años)	0,201 ±0,003 <sup>ab</sup>	0,204 ±0,005 <sup>ab</sup>	0,197 ±0,001 <sup>a</sup>	0,210 ±0,004 <sup>b</sup>	4,386	,041		n.s.
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	15,5 ±0,19 <sup>a</sup>	20,8 ±0,64 <sup>b</sup>	15,3 ±0,37 <sup>a</sup>	19,9 ±0,62 <sup>b</sup>	94,203	,000		n.s.
<i>Variables de rendimiento motor (media ± ETM)</i>								
Salto horizontal a pies juntos (m)	89,48 ±4,21 <sup>a</sup>	77,03 ±3,29 <sup>ab</sup>	77,17 ±8,36 <sup>ab</sup>	65,69 ±5,03 <sup>b</sup>	5,537	,022	5,407	,024
Carrera de 12 metros (s)	2,98 ±,04	3,10 ±,07	3,13 ±,09	3,20 ±,09		n.s.		n.s.
<i>Variables de rendimiento académico (media ± ETM)</i>								
Promedio de notas de matemática	6,01 ±,17	5,59 ±,20	5,99 ±,33	5,84 ±,25		n.s.		n.s.
Promedio de notas de lenguaje	5,75 ±,20	5,19 ±,27	5,59 ±,38	5,45 ±,34		n.s.		n.s.
<i>Variable de salud mental (media ± ETM)</i>								
Escala de ansiedad infantil, puntaje total	32,95 ±3,86	30,94 ±3,02	40,0±7,17	26,54 ±3,18		n.s.		n.s.
Ataques de pánico y agorafobia	2,76±,70 <sup>a</sup>	1,75±,74 <sup>a</sup>	6,25±1,76 <sup>b</sup>	3,31±,87 <sup>a</sup>	4,301	,043	7,004	,011
Trastorno de ansiedad de separación	8,38±,91	9,00±1,18	9,75±1,49	5,62±,29		n.s.		n.s.
Fobia social	5,62±,74	5,75±,88	6,63±1,40	5,08±0,80		n.s.		n.s.
Miedo al daño físico	5,24±,91	5,56±,86	5,50±,1,17	5,46±,55		n.s.		n.s.
Trastorno obsesivo compulsivo	4,48±,91	2,94±,64	5,12±,1,25	2,69±,82	4,279	,043		n.s.
Trastorno de ansiedad generalizada	6,48±,87	5,94±,93	7,5±1,36	4,62±,73		n.s.		n.s.
<i>Variables de hábitos de salud (distribución)</i>								
Consumo de comidas no saludables (↑ en grasa y azúcar)					Chi-cuadrado			
					♂ (n=37)		♀ (n=21)	
Desayuno	85,7%(18)	100%(16)	75,5%(5)	100%(13)	,115		,058	
Almuerzo/cena	66,7%(14)	93,8%(15)	50%(4)	76,9%(10)	,047		,204	
Colación	85,7%(18)	100%(16)	62,5%(5)	92,3%(12)	,115		,091	
Snack	81,0%(17)	93,8%(15)	50%(4)	100%(13)	,259		,005	
Actividad física sistemática (clases de educación física y deportes)								
2 a 4 horas semanales %(n)	71,4%(15)	37,5%(6)	87,5%(7)	30,8%(4)	,039		0,11	

<sup>a,b,c</sup> Las letras fueron utilizadas para hacer comparaciones entre todos los grupos. Anova de dos vías, donde: EN= Estado nutricional, G=Género. h-np=niños normopeso, h-spo=niños sobrepeso/obesidad, m-np=niñas normopeso, m-spo=niñas sobrepeso/obesidad. n= 58. p<0,05.

Parte 2B:

**MENTAL HEALTH SCORES, ACADEMIC PERFORMANCE, AND PHYSICAL FITNESS IN NORMO WEIGHT AND OVERWEIGHT/OBESE STUDENTS: A CROSS-SECTIONAL STUDY**

**ABSTRACT**

**Introduction:** Overweight and obesity have increased in adolescent population in recent years. They have been associated with unhealthy habits, poor physical condition and psychological problems and to a lesser extent to low academic performance. **Objectives:** To evaluate the differences among overweight/obese and normo weight groups on psychological parameters, academic performance, physical fitness and health habits in secondary school and university students. **Methods:** Participants were secondary and university students from province of Bio-Bio (Chile). Their BMI/age, fat/lean mass percentage, cardiovascular fitness (sit to stand test, six minute walk test and incremental test on a treadmill), mental health (Rosenberg Self-esteem Scale, Children Depression Inventory-Short, Spence Children's Anxiety Scale) and academic performance (grade point average and approved rate subjects) were evaluated. **Results:** Normal weight secondary students had improved physical fitness compared with overweight/obese secondary students. Normal weight university men had better physical and cardiovascular fitness compared with overweight/obese women. The overweight/obese secondary school women showed lower self-esteem, higher anxiety and depression levels than the normoweight men, and overweight/obese university women had higher anxiety and depression levels than university men. Women student of 3<sup>o</sup> and 4<sup>o</sup> grade had higher grade point of average than men students of 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> grade. No significant differences about approved rate subjects in university students was found. **Conclusions:** The study highlights the impact of the overweight/ obesity in the secondary and university students of Chile, and its association with academic performance, and mental and physical health. The early detection of obesity could help to develop more effective interventions targeted at this population.

**Keyword:** nutritional status, school performance, health behavior, physical fitness, mental health.

## INTRODUCCIÓN

Nowadays overweight and obesity are considered a global epidemic due to its increasing prevalence in developed and in developing countries<sup>1</sup>. Reducing adolescent obesity and working on the associated factors at young and adolescent ages might help to slow down the progress at adulthood and advanced ages. About 80% of overweight adolescents will be overweight in early adulthood<sup>2</sup>. Insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, hypertension, dyslipidemia and metabolic syndrome are the major co-morbidities that present obese children, adolescents and adults<sup>3,4</sup>. In Chile the last data from the government estimates that a 37,8% (of youth population (15-24 years) are overweight or obese, and that regarding gender differences, overweight is higher in men than in women whereas obesity is higher in women compared with men<sup>5</sup>. Chile is the 7<sup>th</sup> OECD member with the highest rates of children overweight and obesity, and the 9<sup>th</sup> member with highest rates of obesity among adults<sup>6</sup>. According to national surveys a 95% of the population consumes unhealthy diets<sup>7</sup>, and a 74,2% of youth population report to be sedentary<sup>8</sup>. All these factors indicate that the young population of Chile has a significant unhealthy energy imbalance and that the prevalence and severity of the associated pathologies will increase in adulthood.

Recent research suggests that poor physical fitness is one of the factors directly associated with overweight and obesity during childhood and youth<sup>9</sup>. In this regard, several studies have analyzed the association between BMI and different tests of physical fitness in both children and adolescents<sup>10,11</sup>. This partnership is vital because fitness levels decline alarmingly from childhood to adolescence<sup>12</sup>, and because the fitness level can predict morbidity and mortality caused by cardiovascular events<sup>13</sup>, longevity and the quality of life<sup>14</sup>. Accordingly, childhood and adolescence are critical periods for learning behaviors that will determine the lifestyle in adulthood<sup>15</sup>. Early screening of health indicators in the young population allows generating the basis for the design and implementation of strategies to reduce future diseases<sup>16</sup>. However, studies evaluating physical fitness, psychological and mental health in obese and overweight children and adolescents in Chile and neighboring countries are scarce.

Regarding mood, there is increasing evidence indicating that the rate of obesity is greater than norm weight in psychiatric population, mainly in women<sup>17</sup>. Dickerson et al (2006) found that 50% of female, and 41% of male psychiatric patients were obese, compared to 27% of female and 20% of male in a non-psychiatric matched comparison group<sup>18</sup>. According to van Germert et al. (1998)<sup>19</sup>, obesity is often accompanied with psychological consequences, such as depression, anxiety, interpersonal problems, low

social adjustment and low self-esteem, thus corroborating that obesity may be significantly associated with mood disorders<sup>20,21</sup>. Simon G et al. (2006)<sup>22</sup> in a cross-sectional epidemiologic survey, evaluated a representative sample of US adults with an in-person interview including assessment of a range of mental disorders (WHO Composite International Diagnostic Interview), height and weight (by self-report). Obesity was associated with a significant increases of major depression and panic disorder or agoraphobia, consistently with other studies<sup>23,24</sup>. However, limited epidemiologic data address the specific relationship between obesity and anxiety, thus remaining to be clarified. Some studies have showed an association between anxiety symptoms and obesity in community<sup>25</sup> and clinic<sup>26</sup> samples, while others have failed to observe a significant relationship<sup>27</sup>. The heterogeneous nature of both anxiety disorders and obesity (severity and onset) may be one of the main reasons for these mixed results<sup>28</sup>. Garipey et al. (2010)<sup>29</sup> reviewed the literature of the past 45 years to search a link between obesity and anxiety disorders in the general population. He found 16 studies (2 prospective and 14 cross-sectional) that met the selection criteria, and concluded that prospective studies investigating the effects of obesity on anxiety disorders are very few and give mixed results. However, cross-sectional studies tend to give a positive association between obesity and anxiety disorders. For instance, the largest study performed in US by Zhao et al. (2012), in which patients self-reported anxiety disorders, and BMI was calculated by self-reported weight and height, found a positive association between obesity and anxiety disorders<sup>30</sup>. This association differed between men and women concerning body weight: it was present in obese women with BMI>30 but only in severely obese men with BMI>40. Besides, Garipey et al. (2010) reported that the odds ratio (OR) of an association between obesity and anxiety was 1.40 (confidence intervals: 1.23–1.57) concluding that a moderate level of evidence exists for a positive association between obesity and anxiety disorders<sup>29</sup>.

It is crucial a better understanding of the relationship between mood disorders and adolescent overweight/obesity, as adolescence is a critical period for the construction of the personality and/or psychosocial development. Determination of the factors related with this association has great clinical value because it could provide clinical guidance in the screening and preventing processes.

On the other hand, a link between BMI or body fat mass and cognitive and academic performance has also been investigated<sup>31,32</sup>. Although the literature is scarce and there are divergences. Liang J et al. (2014)<sup>31</sup> reviewed the articles published in the last 40 years about the relationship between obesity, obesity-related behaviors, cognitive functions and school performance in children and adolescents. Overall, they found data

that support a negative relationship between obesity and various aspects of neurocognitive functioning, such as executive functioning, attention, visuo-spatial performance, and motor skills. Even though, the existing literature is mixed on the effects among obesity, general cognitive functioning, language, learning, memory, and academic achievement. For instance, in a sample of 259 students of third and fifth grades there was a negative correlation between BMI and total academic mathematics and reading achievements (measured by on the Illinois Standards Achievement Test (ISAT)<sup>33</sup>. In preadolescents aged 7 and 10 years (n = 126), the scores of BMI and fat mass (assessed via dual-energy X-ray absorptiometry (DXA)) were negatively correlated with the scores of spelling, reading and arithmetic assessed with the Wide Range Achievement Test<sup>34</sup>. In 171 overweight students (7-11 years) the BMI z-score, waist girth and body-fat (via DXA) measures were negatively correlated with maths and reading scores (measured via Woodcock–Johnson Tests of Achievement III)<sup>35</sup>. In contrast, there were 3 articles that did not find any relationship between the nutritional status and the academic achievement. For instance, in a sample of 792 students of 6–12 years-old, BMI was no associated with academic performance (grade point average) after accounting for socioeconomic status<sup>36</sup>. The authors concluded that more research is needed to determine the link between those variables, to point towards crucial intervention time periods in the development of children, and to inform effective treatment programs.

With all the above, the primary aim of the present study was to evaluate physical fitness, mental health indicators and academic performance in overweight/obese and norm weight adolescents. The second aim, was to evaluate whether those variables could be differentially affected by gender and/or age.

## **METHODS**

**Participants of the study 1:** 248 (128 boys and 120 girls) secondary students from two public schools in the Bio-Bio province (Chile) responded to the study invitation. Non-inclusion criteria were: low weight or morbid obesity, neurological, musculoskeletal, cardiorespiratory or metabolic disease. A total of 139 eligible secondary were included in the study (76 boys and 63 girls). Subsequently, participants were distributed in 8 groups according to their nutritional status (norm weight, overweight/obese), gender (boy, girl), and grade (1<sup>o</sup>-2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup>-4<sup>o</sup>): norm weight boys of 1<sup>o</sup>+2<sup>o</sup> grade (NW-B12, n=23), overweight / obese boys of 1<sup>o</sup>+2<sup>o</sup> grade (OW/O-B12, n=16), norm weight girls of 1<sup>o</sup>+2<sup>o</sup> grade (NW-G12, n=19), overweight/obese girls of 1<sup>o</sup>+2<sup>o</sup> grade (OW/O-G12, n=21), norm weight boys of 3<sup>o</sup>+4<sup>o</sup> grade (NW-B34, n=20), overweight / obese boys of 3<sup>o</sup>+4<sup>o</sup> grade

(OW/O-B34, n=14), norm weight girls of 3<sup>o</sup>+4<sup>o</sup> grade (NW-G34, n=11), overweight/obese girls of 3<sup>o</sup>+4<sup>o</sup> grade (OW/O-G34, n=15).

**Participants of the study 2:** 48 university students (16 men and 32 women) from university of the Bio-Bio province responded to the study invitation. They were between 17 and 19 years old, had enrolled in the first year of university studies and did not have previous university experience. Non-inclusion criteria were: low weight or morbid obesity, neurological, musculoskeletal, cardiorespiratory or metabolic disease. Those who did not have successfully completed the questionnaire aptitude for physical activity (C-AAF) were also excluded. A total of 46 eligible university students were included in the study (15 men and 31 women). The participants were divided into four groups according to their nutritional status (norm weight, overweight/obese) and gender (men, women): norm weight men (NW-M; n=11), norm weight women (NW-W; n=17), overweight and obese men (OW/O-M; n=4), and overweight and obese women (OW/O-W; n=14).

**Anthropometric assessment:** Weight and height were obtained with a scale (SECA®, Model 713, USA). The fat mass percentage was measured with an electronic precision balance with bio-impedance (TANITA, model 545N). The BMI / age curves were established according to the Center for Disease Control and Prevention (CDC / NCHS) used by the Health Ministry of Government of Chile for the nutritional assessment of 6-20 years<sup>37</sup>.

**Physical fitness assessment:** The participants performed two tests<sup>38</sup>. The first was the *sit to stand test (STS)*, to evaluate low extremities strength and endurance. The STS consisted of measuring the number of repetitions performed over a 30-sec period<sup>39</sup>. The starting position of each subject was individually standardized with the use of an adjustable chair by hip flexion at 90°, knee flexion at 90° (full extension was defined as 0°), feet parallel and flat on the floor, trunk erect, and hands on waist or crossing the chest. The subject was asked to stand up to the defined standing position (which required the child's trunk and lower extremities be fully extended) and to repeat as many cycles as possible at a comfortable speed over 30 seconds. The second test was the *Six minute walk test (6MWT)*. It consisted of walking as quickly as possible for 6 minutes to make as many laps as possible in a space of 20 meters<sup>40</sup>. The variable analyzed was the total amount of meters walked divided by the subject's height (m). Both tests are used by the Health Ministry of Government of Chile in the "Vida Sana" program to evaluate the muscular and functional components of physical fitness in the population aged 6-64 years with risk factors for developing chronic, non-communicable diseases<sup>38</sup>.

Heart rate was recorded in both studies using a training heart rate (Polar H7). Recordings were obtained before, immediately after and after one minute the physical fitness test had finished. The  $VO_{2max}$  and maximum speed were determined using an incremental test on a treadmill (HP Cosmos Mercury) in the university students according the following procedure. Briefly, an initial speed of 2,7 km/h and elevation of 0° was used during 3 minutes. Then in the first step, the speed was increased to 4,0 km/h and elevated to 10°. In the next steps, the speed was increased 1,3-4 k/h and 2° every 3 minutes until exhaustion<sup>41</sup>. Gas exchange was recorded continuously with a portable breath-to-breath gas analyzer (Cortex Metamax 3B, Leipzig, Germany). The analyzer was calibrated according to the manufacturer's instructions prior to each trial.  $VO_{2max}$  was determined according to previously established criteria<sup>42</sup>: 1) plateau in  $VO_2$  (*i.e.* increase <150 ml/min), 2) respiratory exchange ratio (RER) > 1.1, and 3) Heart rate (HR) ≥ 90% of theoretical maximal heart rate (HRmax). The  $VO_{2max}$  was expressed relative to body mass (ml/kg·min).

**Academic performance of the secondary students (study 1)** was assessed by the final grade point average (GPA) of the 1st semester in mathematics and reading. GPA ranges from 1,0 to 7,0 with 4,0 being the pass GPA mark. Academic performance of the university students (study 2) was assessed by approved rate subjects (approved subjects/taken subjects)\*100.

### **Mental health assessment**

**Rosenberg Self Esteem Scale (RSES):** We used the Spanish version for measuring self-esteem in a non-clinical sample of adolescents<sup>43,44</sup>. RSES is made up of 10 items, five of which are phrase as positive statements and five as negative, referring to self-respect and self-acceptance rated on a 4-point Likert-type scale, ranging from 1 (totally disagree) to 4 (totally agree). The total score ranges go from 10 to 40.

**Children Depression Inventory-Short (CDI-S):** The CDI is a paper-and-pencil self-report questionnaire designed to assess depressive symptoms in children and adolescents<sup>45</sup>. The adapted Spanish version contains 10 items that are easy to complete. It uses a three-point scale indicating absent, mild or definitive symptoms. The total scores range from 0-20. Overall score > 7 denotes risk of developing depression<sup>46</sup>.

**Spence Children's Anxiety Scale (SCAS):** The SCAS is an auto-report measure of anxiety symptoms for non-clinical samples of children and adolescents<sup>47</sup>. This scale consists of 44 items, which are divided into 6 subscales: separation anxiety disorder (SAD; six items), social phobia (SoP; six items), obsessive-compulsive disorder (OCD;

six items), panic/agoraphobia (Panic; nine items), fear of physical injuries (Fear; five items) and generalized anxiety disorder (GAD; six items). It responds on a four-point scale (0= never, 1=sometimes, 2=often, 3=always), so that high score corresponds to high anxiety. We utilized the Spanish version<sup>48</sup>.

All questionnaires were answered in a school room.

**Data analysis:** mean  $\pm$  standard error of the mean was used to describe all variables of both studies. Data were analyzed using SPSS (v.19.0, SPSS Inc., USA). To determine the normal distribution of the data the Kolmogorov-Smirnov test was used. A two-way ANOVA (study 2) including gender (men or women) and nutritional status (norm weight or overweight/obese); or a three-way ANOVA (study 1) including gender (men or women) x nutritional status (norm weight or overweight/obese) and grade (1<sup>o</sup>+2<sup>o</sup> or 3<sup>o</sup>+4<sup>o</sup>) as a between factors subjects were applied to the data followed by Duncan post hoc test. The heart rate assessed during the STS test was analyzed by repeated measures ANOVA with gender, nutritional status and grade as the between-subjects factor and measurement period as the within-subjects factor. The measurement period included in the analysis were: before, immediately after and after one minute the physical fitness test had finished. Comparisons of parametric variables between two independent groups were performed with a Student t test when appropriate. In the case of non-parametric variables, Kruskal-Wallis test was used for three or more groups and the U Mann-Whitney test was used for comparing pairs groups. To determine the association between variables Pearson's or Spearman correlation was used. The significance level used for all variables was  $p \leq 0,05$ .

The Ethical Committee University of Saint Thomas, Los Angeles (Chile) approved the study protocols. The subjects signed a consent letter for participation. In addition, all procedures were performed in compliance with the Declaration of Helsinki for human experiments.

## **RESULTS**

*Anthropometric and nutritional variables of secondary student (study 1).* The three-way ANOVA showed a significant effect of gender on the body weight [F(1,138)=39.258,  $p < 0.001$ ], height [F(1,138)=180.5,  $p < 0.001$ ], height/age [F(1,138)=19,436,  $p < 0.001$ ], and fat mass average [F(1,138)=91,238,  $p < 0.001$ ], and a gender\*nutritional status interaction on weight [F(1,138)= 7,879,  $p = 0.006$ ], BMI [F(1,138)=7,689,  $p = 0.006$ ] and height/age [F(1,138)=157.75,  $p < 0.001$ ] was found. The analysis indicated that men had greater body weight, height and height/age and smaller fat mass average than women. Post hoc comparisons revealed that the OW/O-B34 group had higher BMI than norm weight

groups, and that OW/O-G12 and OW/O-G34 groups had increased fat mass compared to the other groups ( $p < 0.005$  Duncan test). (Table 1).

*Anthropometric and nutritional variables of university students (study 2).* A significant gender effects on body weight [ $F(1,45)=90.71$ ,  $p < 0.001$ ], fat mass average [ $F(1,45)=65.851$   $p < 0.001$ ] and lean mass average [ $F(1,45)=40.747$ ,  $p < 0.001$ ] were found in the analysis, as well as a significant gender\*nutritional status interaction on the body weight [ $F(1,45)=3.501$ ,  $p=0.068$ ] indicating that men had greater body weight, lean mass average and smaller fat mass average than women. Post hoc comparison revealed that OW/O-W groups had higher fat mass average and lower lean mass average than to rest of the groups ( $p < 0.005$  Duncan test) (Table 2).

*Physical fitness of secondary students (study 1).* The three-way ANOVA revealed a significant effect of nutritional status in the STS test [ $F(1,138)=20,612$ ,  $p < 0.001$ ] indicating that overweight/obese student had lower repetitions in STS test than norm weight students. In addition, a trend toward a significant gender\*nutritional status interaction [ $F(1,138)=2,984$ ,  $p=0,086$ ] Post-hoc comparisons showed that the NW-B34 and NW-G34 groups performed more repetitions in STS test than the other groups. The repeated measures analysis of heart rate revealed a significant effect of the period [ $F(2,138)=372,061$ ,  $p=0,000$ ] and a significant grade\*period interaction [ $F(2,138)=8,564$ ,  $p < 0.001$ ], indicating that all groups modify the heart rate from pre-test assessment to recovery assessment. Students of 1st and 2nd grade modified the heart rate more than students of 3° y 4° grade.

The analysis of the 6MWT test did not show any significant main effect or interaction. Regarding heart rate assessed during 6MWT test, the analysis showed a significant effect of measurement period [ $F(2,138)=349,878$ ,  $p < 0.001$ ] (Figure 1 A,B,C,D) indicating that all groups modify the heart rate from pre-test assessment to recovery assessment.

*Physical fitness of university students (study 2).* A significant gender effect [ $F(1,45)=10,191$ ,  $p < 0.001$ ] indicated that men performed more repetitions than women in the STS test. Significant gender effects were also found in the analysis of the maximum speed achieved ( $F(1,45)=15,869$ ,  $p < 0.001$ ), and the Vo2max [ $F(1,45)=39,205$ ,  $p < 0.001$ ] of treadmill test, thus indicating that men reached greater maximum speed and higher Vo2max than women on incremental treadmill test. Nutritional status was significant for the maximum speed and Vo2max ([ $F(1,45)=6,079$ ,  $p=0,018$ ], [ $F(1,45)=17,587$ ,  $p < 0.001$ ] respectively), indicating that norm weight students reached greater maximum speed and higher Vo2max than Overweight/obese students. The NW-M group reached the highest

maximum speed and the highest VO<sub>2</sub>max with respect to the other groups ( $p < 0.05$  Duncan test). (Figures 2A-D).

*Academic scores of secondary students (study 1).* We found a significant effect of grade [ $F(1,138)=6,745$ ,  $p=0.010$ ], a significant gender\*grade interaction [ $F(1,138)=6,092$ ,  $p=0.015$ ] and a trend toward significance of nutritional status [ $F(1,138)=3,596$ ,  $p=0.060$ ] on the final grade point average (GPA). These results indicated that women students of 3<sup>o</sup> and 4<sup>o</sup> grade had higher GPA than men students of 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> grade. The NW-G34 group showing the highest GPA score compared with the other groups ( $p < 0.05$  Duncan test). (Figure 3).

*Academic scores of university students (study 2).* There was a significant gender effect [ $F(1,45)=8,075$ ,  $p=0,007$ ] on the approved rate subjects, thus indicating women had higher approved rate subjects than men No significant nutritional status effects or gender\*nutritional status interaction were found. (Figure 4).

*Questionnaires scores of secondary students (study 1).* The analysis of variance revealed a significant effect of gender [ $F(1,138)=6,935$ ,  $p=0.009$ ], nutritional status [ $F(1,138)=18,242$ ,  $p < 0.001$ ], and grade [ $F(1,138)=4,509$ ,  $p=0.036$ ] on the RSES scale, indicating that women had higher RSES score than men, overweight/obese students had higher RSES score than norm weight students and students of 3<sup>o</sup> and 4<sup>o</sup> grade had higher RSES score than students of 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> grade. A significant gender\*nutritional status interaction [ $F(1,138)=4,208$ ,  $p=0.042$ ] indicated that RSES score was higher in overweight/obese women compared with norm weight men. Further comparisons of the RSES scores indicated that the OW/O-G34 group showed a lower RSES score than norm weight groups and OW/O-B34 ( $p < 0.05$  Duncan test). Analysis of CDI-S scores indicated a significant effect of gender [ $F(1,138)=27,040$ ,  $p < 0.001$ ], nutritional status [ $F(1,138)=9,601$ ,  $p=0.002$ ] and interaction gender\*nutritional status [ $F(1,138)=3,678$ ,  $p=0,042$ ]. Indicating that overweight/obese women had higher CDI-S score than norm weight men. OW/O-G12 and OW/O-G34 groups had higher scores in comparison with all the other groups less NW-G12 ( $p < 0.05$  Duncan test). In relation to the SCAS, a significant effect of gender [ $F(1,138)=23,334$ ,  $p < 0.001$ ], nutritional status [ $F(1,138)=4,722$ ,  $p=0.032$ ] and interaction gender\*grade\*nutritional status [ $F(1,138)=5,838$ ,  $p=0.017$ ] were also found. The significant interaction revealed that change in SCAS score depending on gender, nutritional status and grade of secondary students indicating that women, overweight/obese and student of 3<sup>o</sup> and 4<sup>o</sup> grade had higher SCAS score compared with men, norm weight and student of 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> grade.

Post hoc comparisons indicated that OW/O-G34 grade had higher score in SCAS score compared with men and NW-G12 ( $p < 0.05$  Duncan test) (figure 5).

According to the SCAS subcategories scores, three-way anova revealed a significant effect of gender [ $F(1,138)=22.093$ ,  $p=0,000$ ] and a significant gender\*grade\*nutritional status interaction [ $F(1,138)=6,132$ ,  $p=0,015$ ] in panic/agoraphobia indicated that overweight/obese women of 1° and 2° grade had higher panic/agoraphobia score that norm weight men of 3° and 4° grade. The separation anxiety disorder (SAD) analysis also showed a significant effect of gender [ $F(1,138)=14,030$ ,  $p < 0.001$ ], indicating that women had higher SAD score than men. A significant effect of gender [ $F(1,138)=7,332$ ,  $p=0.008$ ], nutritional status [ $F(1,138)=4,131$ ,  $p=0.044$ ] and grade [ $F(1,138)=4,823$ ,  $p=0.030$ ] were found on social phobia (SP), indicating that women had higher SP score that men, OW/O students had higher SP score that NW students and student of 3° and 4° grade had higher SP score than students of 1° and 2° grade. A significant effect of gender [ $F(1,138)=28,840$ ,  $p < 0.001$ ], significant grade\*nutritional status [ $F(1,138)=5,734$ ,  $p=0.018$ ] and gender\*grade\*nutritional status [ $F(1,138)=7,273$ ,  $p=0.008$ ] interactions appeared on fear of physical injuries (F/PI), indicating that norm weight girls of 1° and 2° grade had higher F/PI score than overweight/obese men of 3° and 4° grade. The analysis revealed a significant effect of nutritional status [ $F(1,138)=12.295$ ,  $p=0.001$ ] and gender\*grade\*nutritional status interaction [ $F(1,138)=5,045$ ,  $p=0.026$ ] on obsessive-compulsive disorder (OCD), indicating that overweight/obese women of 1° and 2° grade had higher OCD score than norm weight men of 3° and 4° grade. A significant effect of gender [ $F(1,138)=17,433$ ,  $p < 0.001$ ] and nutritional status [ $F(1,138)=4,873$ ,  $p=0.029$ ] appeared on generalized anxiety disorder (GAD), indicating that women had higher GAD score than men and overweight/obese had higher GAD score than norm weight (Table 3).

*Questionnaires scores of university students (study 2).* The two-way anova showed a significant gender effect on CDI-S and SCAS ([ $F(1,45)=8,417$ ,  $p=0.006$ ], [ $F(1,45)=20,856$ ,  $p < 0.001$ ] respectively) (figure 6), indicating that women had higher CDI-S score than men.

A significant gender effect in all SCAS subcategories was found (panic/agoraphobia  $F(1,45)=8.331$ ,  $p=0,006$ ), SAD  $F(1,45)=15,193$ ,  $p < 0.001$ ), SP  $F(1,45)=10,371$ ,  $p=0.002$ ), F/PI  $F(1,45)=11,301$ ,  $p=0.002$ ), OCD  $F(1,45)= 3,087$ ,  $p=0.086$ ) , GAD  $F(1,45)=16,577$ ,  $p < 0.001$ ) indicating that women had higher score in all SCAS subcategories that men. In addition, a significant gender\*nutritional status interaction  $F(1,45)=4,577$ ,  $p=0.038$ )

was found in the OCD subcategory, indicating that overweight men had lower OCD score than norm weight women (table 4)

## References

1. Ogden C, Carroll M, Flegal K. Epidemiologic trends in overweight and obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2003; 32:741-760.
2. Deshmukh- Taskar P, Nicklas T, Morales M, Yang S, Zakeri I, Berenson G. Tracking of overweight status from childhood to young adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 48-57.
3. Weiss R, Gillis D. Patho-physiology and dynamics of altered glucose metabolism in obese children and adolescents. *International Journal of Pediatric Obesity* 2008; 3: 15-20.
4. Belay B, Belamarich P, Racine AD. Pediatric precursors of adult atherosclerosis. *Pediatr Rev.* 2004; 25: 4-16.
5. Ministerio de Salud de Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile, Universidad Alberto Hurtado. Encuesta Nacional de Salud 2009-2010. Santiago, Chile. [Available in: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>] [Sought: January 22, 2015].
6. OECD (2015), Overweight and obesity among children, in *Health at a Glance 2015: OECD Indicators*, OECD Publishing, Paris. Francia. [Available in: [http://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2015\\_health\\_glance-2015-en](http://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2015_health_glance-2015-en)] [Sought: February 2, 2016].
7. Ministerio de Salud de Chile. Encuesta de consumo alimentario en Chile. ENCA. Encuesta Nacional de consumo alimentario informe final. Santiago, Chile. 2014. [Available in: [http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA-INFORME\\_FINAL.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA-INFORME_FINAL.pdf) ] [Sought: March 22, 2015].
8. Instituto Nacional del Deporte (IND). Encuesta nacional de hábitos de actividad física y deportes en la población chilena de 18 años y más. Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas de la Universidad de Concepción 2012, Chile
9. Joshi P, Bryan C, Howat H. Relationship of body mass index and fitness levels among schoolchildren. *J Strength Cond Res* 2012; 26 (4): 1006-14.
10. Castro-Piñero J, González-Montesinos J L, Keating XD, Mora J, Sjöström M, Ruiz, J. R. Percentile values for running sprint field tests in children ages 6- 17 years: Influence of weight status. *Research Quarterly for Exercise and Sport.* 2010; 81, 143-151.
11. Castro-Piñero J, González-Montesinos JL, Mora J, Keating XD, Girela-Rejón MJ, Sjöström M, Ruiz JR. Percentile values for muscular strength field tests in children aged 6 to 17 years: Influence of weight status. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2009: 23, 2295-2310.
12. Ortega FB, Ruiz JR, Castillo MJ, Moreno LA, González-Gross M, Warnberg J, et al. Low level of physical fitness in Spanish adolescents. Relevance for future cardiovascular health (AVENA study). *Rev Esp Cardiol* 2005; 58: 898-909.
13. LaMonte MJ, Barlow CE, Jurca R, Kampert JB, Church TS, Blair SN. Cardiorespiratory fitness is inversely associated with the incidence of metabolic syndrome: a prospective study of men and women. *Circulation* 2005; 112: 505-12.
14. Laukkanen JA, Lakka TA, Raurama R, Kuhanen R, Venalainen JM, Salonen R, et al. Cardiovascular fitness as a predictor of mortality in men. *Arch Intern Med* 2001; 161(6): 825-31.
15. De Bourdeaudhuij I, Maes L, De Henauw S, De Vriendt T, Moreno LA, Haerens L. Evaluation of a computer-tailored physical activity intervention in adolescents in six

- European countries: the Activ-O-Meter in the HELENA intervention study. *Journal of Adolescent Health*, 2010; 46 (5): 458-466.
16. Vander Ploeg, K. A., Maximova, K., McGavock, J., Davis, W. & Veugelers, P. Do school-based physical activity interventions increase or reduce inequalities in health? *Soc Sci Med* 112, 80-87, doi:10.1016/j.socscimed.2014.04.032 (2014).
  17. Allison DB, Newcomer JW, Dunn AL, Blumenthal JA, Fabricatore AN, Daumit GL, et al. Obesity among those with mental disorders: a National Institute of Mental Health meeting report. *Am J Prev Med* 2009;36(4):341–50.
  18. Dickerson FB, Brown CH, Daumit GL, Fang L, Goldberg RW, Wohlheiter K, et al. Health status of individuals with serious mental illness. *Schizophr Bull* 2006;32(3):584–9.
  19. van Gemert WG, Severeijns RM, Greve JW, Groenman N, Soeters PB. Psychological functioning of morbidly obese patients after surgical treatment. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998, 22:393– 398
  20. Petry NM, Barry D, Pietrzak RH, Wagner JA. Overweight and obesity are associated with psychiatric disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Psychosom Med* 2008;70(3):288–97.
  21. Stunkard AJ, Faith MS, Allison KC . Depression and obesity. *Biol Psychiatry*. 2003 Aug 1; 54(3):330-7.
  22. Simon GE, Von Korff M, Saunders K, Miglioretti DL, Crane PK, van Belle G, et al. Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Arch Gen Psychiatry*. 2006 Jul;63(7):824-30.
  23. Heo M, Pietrobelli A, Fontaine K, Sirey J, Faisy M. Depressive mood and obesity in US adults: comparison and moderation by sex, age, and race. *Int J Obes*. 2005(epub Nov 15)
  24. Johnston E, Johnston S, McLeod P, Johnston M. The relation of body mass index to depressive symptoms. *Can J Public Health* 2004;95:179–83.
  25. Jorm A, Korten A, Christensen H, Jacomb P, Ridgers B, Parslow R. Association of obesity with anxiety, depression, and emotional well-being: a community survey. *Aust N Z J Public Health* 2003;27:434–40.
  26. Cilli M, De Rosa R, Pandolfi C, Vacca K, Cugini P, Ceni ZBS. Quantification of sub-clinical anxiety and depression in essentially obese patients and normal-weight health subjects. *Eat Weight Disord* 2003;8:319–20
  27. Hasler G, Pine DS, Gamma A, Milos G, Ajdacic V, Eich D et al. The associations between psychopathology and being overweight: a 20-year prospective study. *Psychol Med* 2004, 34:1047–1057.
  28. Fox CK, Gross AC, Rudser KD, Foy A, Kelly A. Depression, anxiety, and severity of obesity in adolescents: Is Emotional eating the link?. *Clinical Pediatrics* 2015. 1-6.
  29. Garipey G, Nitka D, Schmitz N. The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes (Lond)* 2010, 34:407–419
  30. Zhao J, Xing X, Wang M. Psychometric properties of the Spence Children's Anxiety Scale (SCAS) in Mainland Chinese children and adolescents. *J Anxiety Disord* 2012;26:728-736.
  31. Liang J, Matheson BE, Kaye WH, Boutelle KN. Neurocognitive correlates of obesity and obesity-related behaviors in children and adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2014;38(4):494-506.
  32. Taras H, Potts-Datema W. Obesity and student performance at school. *J Sch Health*. 2005;75:291–5.
  33. Castelli DM, Hillman CH, Buck SM, Erwin HE. Physical fitness and academic achievement in third-and fifth-grade students. *J Sport Exerc Psychol* 2007;29(2):239-52.

34. Kamijo K, Khan NA, Pontifex MB, Scudder MR, Drollette ES, Raine LB, et al. The relation of adiposity to cognitive control and scholastic achievement in preadolescent children. *Obesity (Silver Spring)*2012;20:2406–2411
35. Davis CL, Tomporowski PD, McDowell JE, Austin BP, Miller PH, Yanasak NE, et al. Exercise Improves Executive Function and Achievement and Alters Brain Activation in Overweight Children: A Randomized Controlled Trial. *Health Psychol.* 2011 Jan; 30(1): 91–98.
36. Barrigas C, Frago I. Obesity, academic performance and reasoning ability in Portuguese students between 6 and 12 years old. *J Biosoc Sci.* 2012; 44:165–179.
37. Ministerio de Salud Chile. Normas técnicas para la supervisión de niños y niñas de 0 a 9 años en la atención primaria de salud. Programa nacional de salud de la infancia. 2014. Santiago, Chile. [Available in: <http://web.minsal.cl/salud-infantil/> ] [Sought: February 2, 2016].
38. Ministerio de Salud de Chile. Programa vida sana prevención de ENTs- Atención primaria: Orientaciones y lineamientos programa vida sana. 2015. Santiago, Chile. [Available in: [http://www.gob.cl/cuenta-publica/2015/sectorial/2015\\_sectorial\\_ministerio-salud.pdf](http://www.gob.cl/cuenta-publica/2015/sectorial/2015_sectorial_ministerio-salud.pdf)] [Sought: February 2, 2016].
39. Bohannon RW. Sit-To-Stand Test for measuring performance of lower extremity muscles. *Perceptual Motor Skills.* 1995;80:163-166.
40. Geiger R, Strasak A, Benedikt T. Six-Minute Walk test in children and adolescents. *J Pediatr Health Care.* 2007;150:395-399.
41. Bentley DJ, Newell J, Bishop D. Incremental exercise test design and analysis: implications for performance diagnostics in endurance athletes. *Sports Med.* 2007;37(7):575-86.
42. Howley ET, Bassett DR, Jr., Welch HG. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27(9):1292-301.
43. Vásquez AJ, Jiménez R, Vásquez-Morejón R. Escala de autoestima de Rosenberg: fiabilidad y validez en población clínica española. *Apunt Psicol.* 2004. 22;247-255
44. Martín-Albo J, Nuñez JL, Navarro JG, Grijalvo F. The Rosenberg Self-esteem scale: Translation and validation in university students. *Span J Psychol.* 2007.vol 10(2);458-467.
45. Algaier AK, Frühe B, Pietsch K, Saravo B. Is the Children's Depression inventory short version a valid screening tool in pediatric care? A comparison to its full-length version. *J Psychosom Res* 2012;73;369-374.
46. Del Barrio V, Roa ML, Olmedo M, Colodrón F. First adaption of the CDI-S for Spanish population. *Acción Psicológica* 2002.2;263-272.
47. Spence SH. Structure of anxiety symptoms among children: A confirmatory factor-analytic study. *Journal of Abnormal Psychology*:1997;106, 280-297.
48. Godoy A, Gavino A, Carrillo F, Cobos MP, Quintero C. Composición factorial de la versión española de la Spence Children Anxisty Scale (SCAS). *Psicothema* 2011. Vol 23; (2):289-94.

**Table 1. Anthropometric and nutritional variables\* of secondary students**

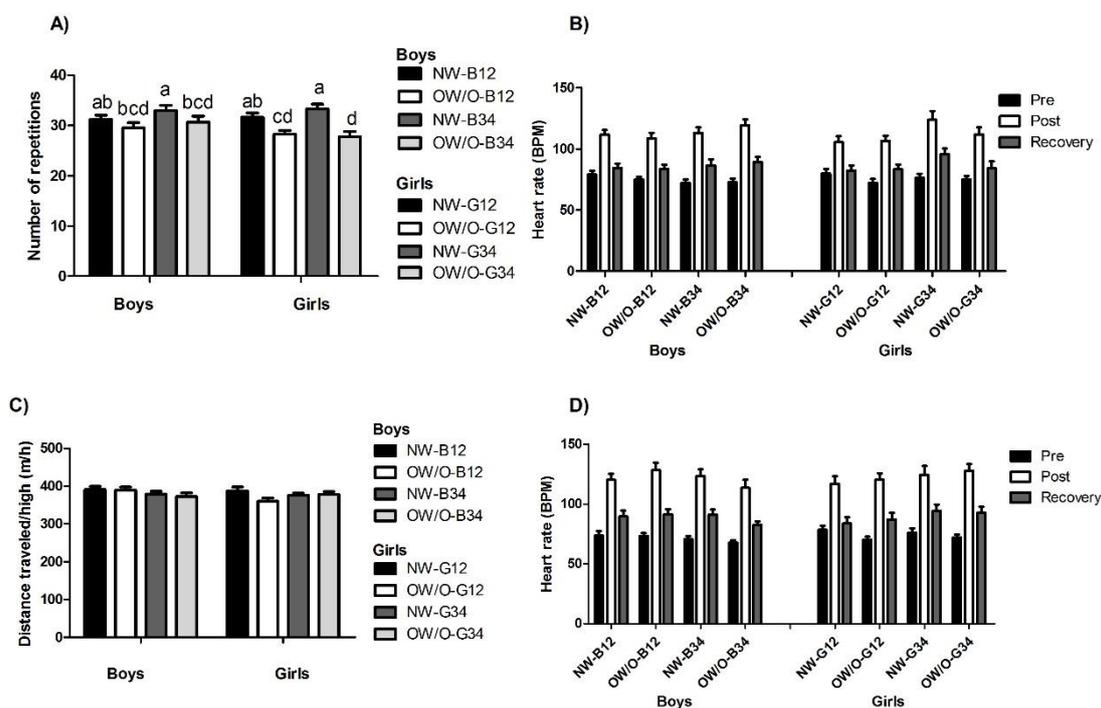
Group (n=139)	Age (years)	Weight (kg)	Height (m)	Height/age (m/years)	BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	Fat mass (%)
NW-B12	15,0±,2 <sup>cd</sup>	58,8±1,3 <sup>de</sup>	1,70±0,0 <sup>a</sup>	0,11±0,0 <sup>a</sup>	20,4±0,3 <sup>c</sup>	20,2±0,9 <sup>d</sup>
OW/O-B12	15,5±,2 <sup>c</sup>	76,7±3,8 <sup>b</sup>	1,71±0,0 <sup>a</sup>	0,11±0,0 <sup>ab</sup>	26,4±1,3 <sup>ab</sup>	26,9±1,8 <sup>bc</sup>
NW-B34	17,3±,2 <sup>a</sup>	66,8±1,3 <sup>cd</sup>	1,72±0,0 <sup>a</sup>	0,10±0,0 <sup>c</sup>	23,1±0,5 <sup>c</sup>	19,5±0,8 <sup>d</sup>
OW/O-B34	17,9±,3 <sup>a</sup>	85,3±2,6 <sup>a</sup>	1,73±0,0 <sup>a</sup>	0,10±0,0 <sup>c</sup>	28,5±0,6 <sup>a</sup>	25,8±1,1 <sup>c</sup>
NW-G12	14,8±,2 <sup>d</sup>	53,0±1,2 <sup>e</sup>	1,57±0,0 <sup>b</sup>	0,11±0,0 <sup>b</sup>	21,5±0,4 <sup>c</sup>	29,7±0,9 <sup>b</sup>
OW/O-G12	14,9±,2 <sup>d</sup>	70,0±2,8 <sup>bc</sup>	1,59±0,0 <sup>b</sup>	0,11±0,0 <sup>b</sup>	27,8±1,0 <sup>ab</sup>	36,0±1,1 <sup>a</sup>
NW-G34	17,6±,3 <sup>a</sup>	55,2±1,7 <sup>e</sup>	1,58±0,0 <sup>b</sup>	0,09±0,0 <sup>d</sup>	22,0±0,5 <sup>c</sup>	28,1±1,2 <sup>bc</sup>
OW/O-G34	16,3±,2 <sup>b</sup>	64,3±3,4 <sup>cd</sup>	1,59±0,0 <sup>b</sup>	0,10±0,0 <sup>c</sup>	25,5±1,1 <sup>b</sup>	33,3±2,1 <sup>a</sup>

\*m± SE are shown for the following groups: NW-B12 (n=23), norm weight boys and OW/O-B12 (n=19), overweight and obese boys of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-B34 (n=20), norm weight boys and OW/O-B34 (n=14), overweight and obese boys of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school; NW-G12 (n=16), norm weight girls and OW/O-G12 (n=21), overweight and obese girls of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-G34 (11), norm weight girls and OW/O-G34 (n=15), overweight/obese girls of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school. <sup>a,b,c,d</sup> Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison), p<0.05.

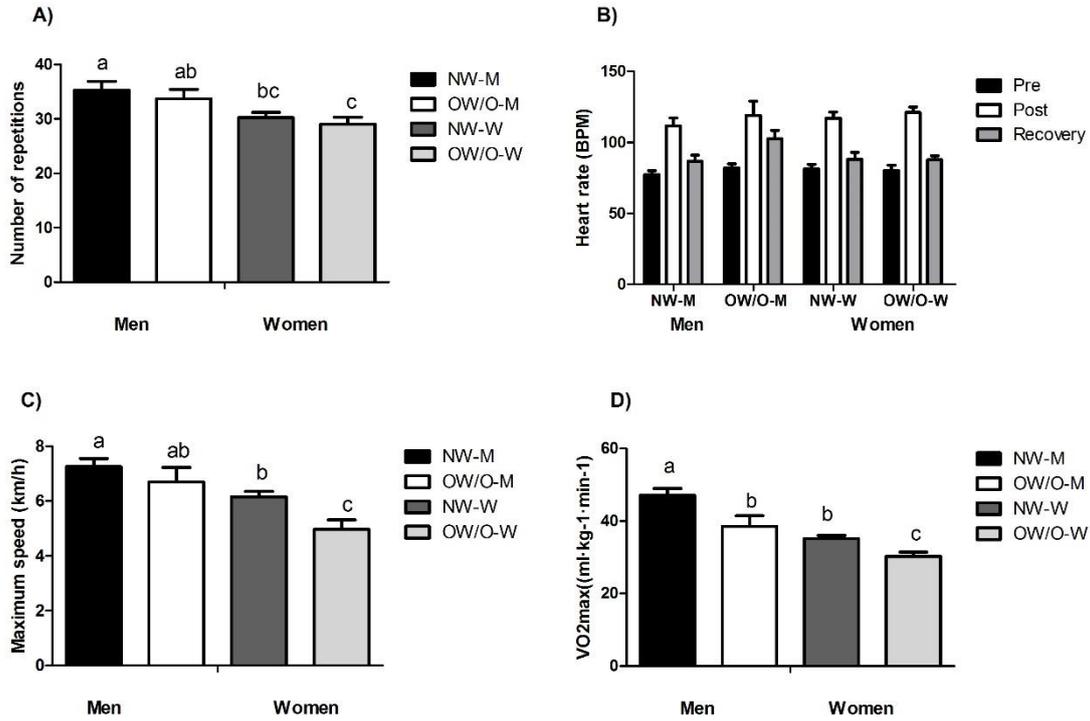
**Table 2. Anthropometric and nutritional variables\* of university students**

Group (n=46)	Age (years)	Weight (kg)	Height (m)	BMI (Kg/m <sup>2</sup> )	Fat mass (%)	Lean mass (%)
NW-M	18,8±0,2 <sup>b</sup>	66,2±2,3 <sup>c</sup>	1,74±0,0 <sup>a</sup>	21,8±0,5 <sup>b</sup>	14,4±1,6 <sup>c</sup>	62,9±1,2 <sup>a</sup>
OW/O-M	20,0±0,0 <sup>a</sup>	90,6±3,6 <sup>a</sup>	1,79±0,0 <sup>a</sup>	28,3±1,6 <sup>a</sup>	24,6±2,3 <sup>b</sup>	52,7±1,2 <sup>b</sup>
NW-W	18,8±0,2 <sup>b</sup>	55,0±1,1 <sup>d</sup>	1,61±0,0 <sup>b</sup>	21,2±0,4 <sup>b</sup>	24,9±0,9 <sup>b</sup>	55,3±0,6 <sup>b</sup>
OW/O-W	18,9±0,1 <sup>b</sup>	74,1±2,1 <sup>b</sup>	1,60±0,0 <sup>b</sup>	29,1±0,6 <sup>a</sup>	37,1±1,0 <sup>a</sup>	47,1±0,7 <sup>c</sup>

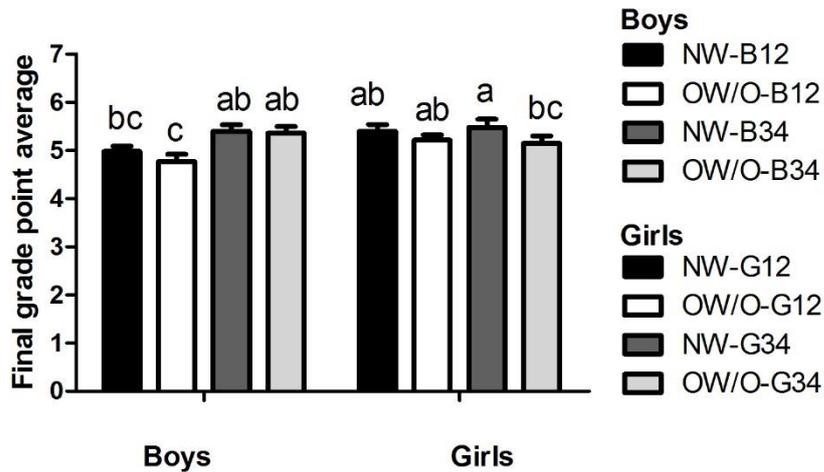
\*m± SE of the following groups are shown: NW-M (n=11), norm weight men; OW/O-M (n=4), overweight and obese men; NW-W (n=17), norm weight women; OW/O-W (n=14), overweight and obese women. <sup>a,b,c,d</sup> Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison), p<0.05.



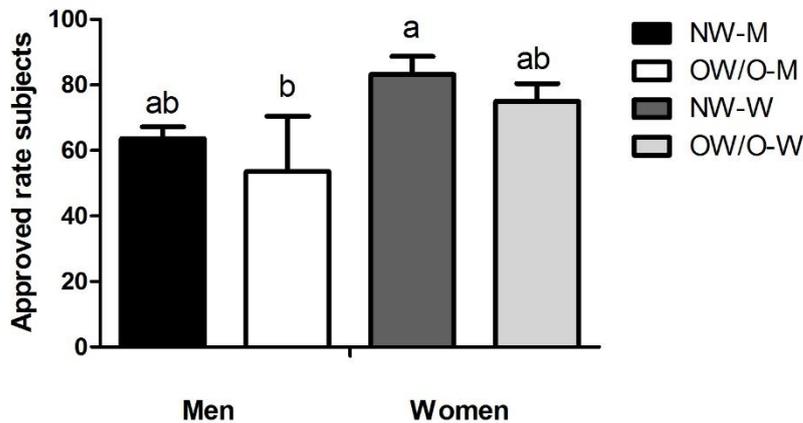
**Figure 1. Scores of secondary students in the Sit to stand test (STS) and the 6 min walk test (6MW). A) Number of repetitions and B) Heart rate before, immediately after and after 1 minute the STS had finished. C) Distance travelled and D) Heart rate before, immediately after and after 1 minute the 6MW had finished. Means  $\pm$  SEM of the following groups are shown: NW-B12, norm weight boys and OW/O-B12, overweight and obese boys of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-B34, norm weight boys and OW/O-B34, overweight and obese boys of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school; NW-G12, norm weight girls and OW/O-G12, overweight and obese girls of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-G34, norm weight girls and OW/O-G34, overweight/obese girls of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school. n=139. a,b,c,d Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison), p<0.05.**



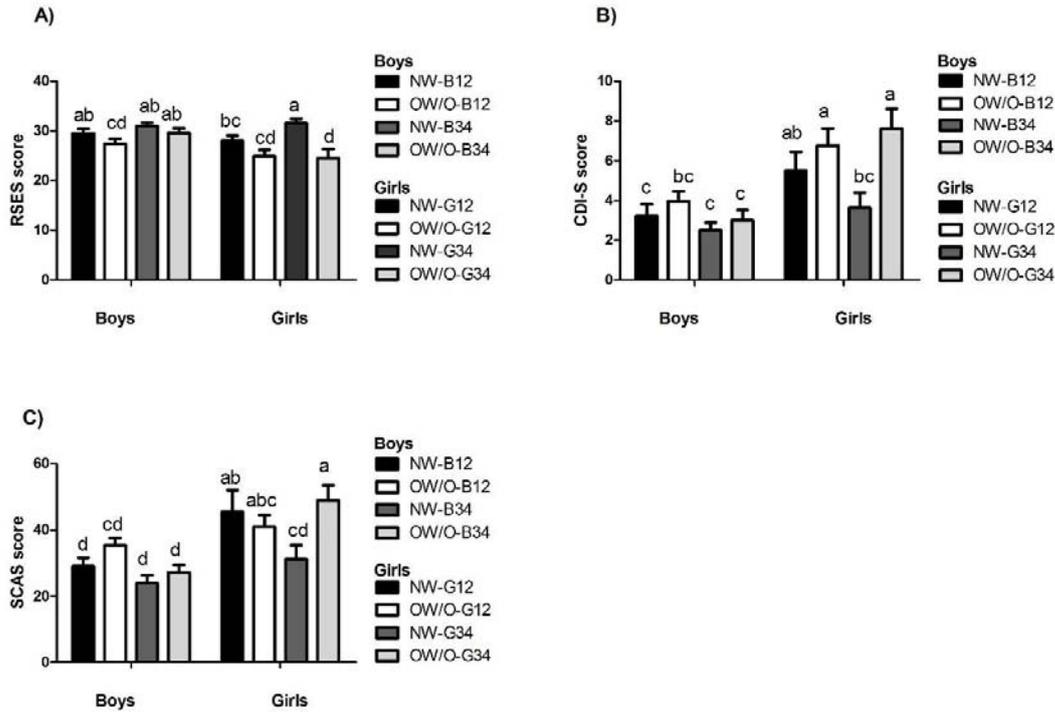
**Figure 2. Scores of university students in the Sit to stand test (STS) and incremental test on a treadmill. A) Number of repetitions and B) Heart rate before, immediately after and after 1 minute the STS had finished. C) Maximum speed achieved and D) Vo2max.** Means  $\pm$  SEM of the following groups are shown: NW-M (n=11), norm weight men; OW/O-M (n=4), overweight and obese men; NW-W (n=17), norm weight women; OW/O-W (n=14), overweight and obese women. n=46. *a,b,c,d* Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison),  $p < 0.05$ .



**Figure 3. Academic performance is shown by the Final grade point average obtained by secondary students. Means ± SEM of the following groups are shown:** NW-B12, norm weight boys and OW/O-B12, overweight and obese boys of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-B34, norm weight boys and OW/O-B34, overweight and obese boys of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school; NW-G12, norm weight girls and OW/O-G12, overweight and obese girls of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-G34, norm weight girls and OW/O-G34, overweight/obese girls of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school. n=139. *a,b,c,d* Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison), p<0.05.



**Figure 4. Academic performance is shown by approved rate subjects obtained by university students. Means ± SEM of the following groups are shown:** NW-M, norm weight men; OW/O-M, overweight and obese men; NW-W, norm weight women; OW/O-W, overweight and obese women. n=46. *a,b,c,d* Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison), p<0.05.

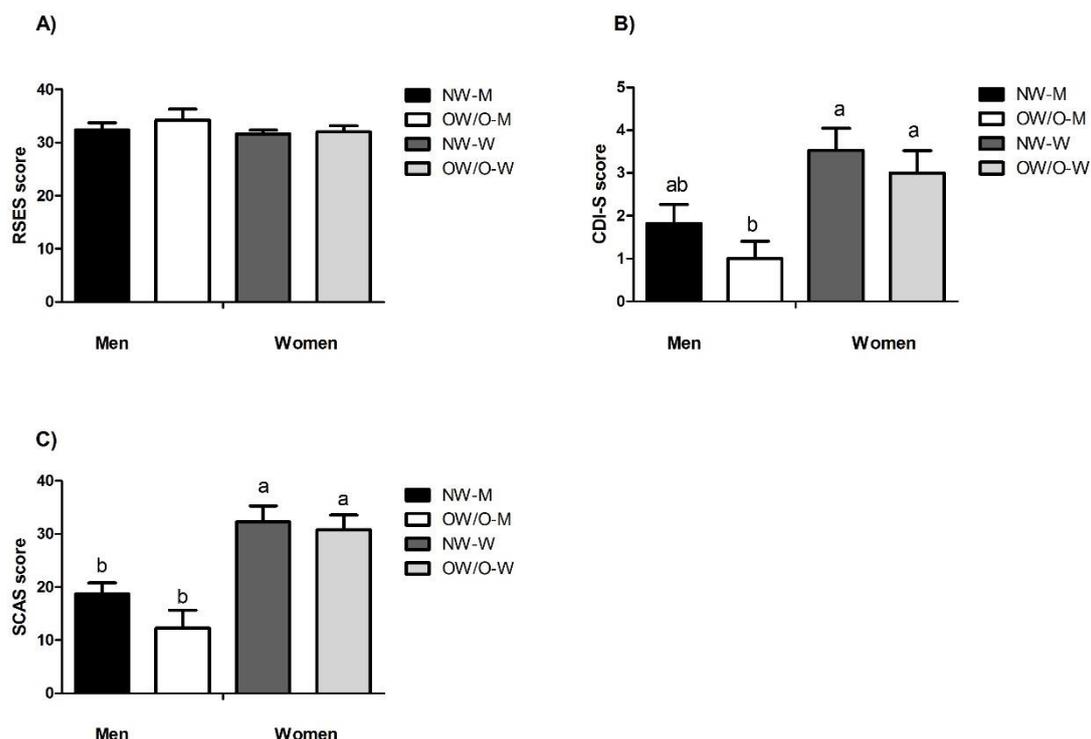


**Figure 5. Mental health scores of secondary students in the A) Rosenberg Self Esteem Scale (RSES), B) Children's depression inventory-short (CDI-S), C) Spence Children's anxiety scale (SCAS).** Means  $\pm$  SE for the following groups are shown: NW-B12, norm weight boys and OW/O-B12, overweight and obese boys of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-B34, norm weight boys and OW/O-B34, overweight and obese boys of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school; NW-G12, norm weight girls and OW/O-G12, overweight and obese girls of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-G34, norm weight girls and OW/O-G34, overweight/obese girls of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school. n=139. *a,b,c,d* Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison),  $p < 0.05$ .

**Table 3. Spence Children's anxiety scale (SCAS) subcategories scores\* of secondary students.**

Group (n=139)	P/A	SAD	SF	F/PI	OCD	GAD
NW-B12	3,4 $\pm$ 0,6 <sup>d</sup>	4,6 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	6,8 $\pm$ 0,5 <sup>ab</sup>	2,6 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	5,1 $\pm$ 0,5 <sup>bc</sup>	6,5 $\pm$ 0,7 <sup>bc</sup>
OW/O-B12	5,5 $\pm$ 0,7 <sup>cd</sup>	4,8 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	6,7 $\pm$ 0,7 <sup>ab</sup>	3,3 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>	7,6 $\pm$ 0,7 <sup>ab</sup>	7,6 $\pm$ 0,4 <sup>bc</sup>
NW-B34	3,0 $\pm$ 0,6 <sup>d</sup>	4,2 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	4,1 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup>	2,3 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	4,6 $\pm$ 0,7 <sup>c</sup>	6,0 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup>
OW/O-B34	2,8 $\pm$ 0,9 <sup>d</sup>	4,1 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	5,4 $\pm$ 0,6 <sup>bc</sup>	2,6 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>	5,8 $\pm$ 0,5 <sup>bc</sup>	6,5 $\pm$ 0,6 <sup>bc</sup>
NW-G12	9,0 $\pm$ 2,0 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	7,2 $\pm$ 0,9 <sup>ab</sup>	6,5 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 1,2 <sup>ab</sup>	8,6 $\pm$ 1,1 <sup>ab</sup>
OW/O-G12	7,1 $\pm$ 1,1 <sup>ab</sup>	5,9 $\pm$ 0,6 <sup>ab</sup>	8,0 $\pm$ 0,6 <sup>ab</sup>	4,2 $\pm$ 0,5 <sup>bc</sup>	7,3 $\pm$ 0,7 <sup>ab</sup>	8,6 $\pm$ 0,7 <sup>ab</sup>
NW-G34	4,9 $\pm$ 1,2 <sup>cd</sup>	4,8 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	5,6 $\pm$ 1,1 <sup>bc</sup>	3,6 $\pm$ 0,7 <sup>c</sup>	4,5 $\pm$ 0,9 <sup>c</sup>	7,6 $\pm$ 1,0 <sup>bc</sup>
OW/O-G34	8,5 $\pm$ 1,5 <sup>ab</sup>	6,9 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	8,5 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	5,7 $\pm$ 0,7 <sup>ab</sup>	8,5 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	10,7 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>

\*m $\pm$  SE are shown for the following groups: NW-B12 (n=23), norm weight boys and OW/O-B12 (n=19), overweight and obese boys of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-B34 (n=20), norm weight boys and OW/O-B34 (n=14), overweight and obese boys of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school; NW-G12 (n=16), norm weight girls and OW/O-G12 (n=21), overweight and obese girls of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> year of high school; NW-G34 (11), norm weight girls and OW/O-G34 (n=15), overweight/obese girls of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> year of high school. P/A=panic/agoraphobia, SAD=separation anxiety disorder, SF=social phobia, F/PI=fear of physical injuries, OCD=obsessive-compulsive disorder, GAD=generalized anxiety disorder. *a,b,c,d* Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison),  $p < 0.05$ .



**Figure 6. Mental health scores of university students in the A) Rosenberg Self Esteem Scale (RSES), B) Children's depression inventory-short (CDI-S), C) Spence Children's anxiety scale (SCAS).** Means  $\pm$  SE for the following groups are shown: NW-M, norm weight men; OW/O-M, overweight and obese men; NW-W, norm weight women; OW/O-W, overweight and obese women.  $n=46$ . <sup>a,b,c,d</sup> Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison),  $p<0.05$ .

**Table 4. Spence Children's anxiety scale (SCAS) subcategories scores of university students.**

Group (n=46)	P/A	SAD	SF	F/PI	OCD	GAD
NW-M	0,8 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	2,4 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	3,7 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	1,8 $\pm$ 0,4 <sup>bc</sup>	4,7 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	5,3 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>
OW/O-M	0,8 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	1,8 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	3,3 $\pm$ 1,5 <sup>b</sup>	1,0 $\pm$ 0,7 <sup>c</sup>	1,0 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	4,5 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>
NW-W	4,1 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	5,0 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	3,6 $\pm$ 0,6 <sup>ab</sup>	4,4 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	8,2 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>
OW/O-W	3,6 $\pm$ 0,8 <sup>ab</sup>	5,0 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	5,7 $\pm$ 0,7 <sup>ab</sup>	4,4 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	4,2 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	7,8 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>

\* $m \pm$  SE of the following groups are shown: Means: NW-M ( $n=11$ ), norm weight men; OW/O-M ( $n=4$ ), overweight and obese men; NW-W ( $n=17$ ), norm weight women; OW/O-W ( $n=14$ ), overweight and obese women.  $n=46$ . P/A=panic/agoraphobia, SAD=separation anxiety disorder, SF=social phobia, F/PI=fear of physical injuries, OCD=obsessive-compulsive disorder, GAD=generalized anxiety disorder <sup>a,b,c,d</sup> Mean values with different letters were significantly different between groups (two-way ANOVA and Duncan's post hoc comparison),  $p<0.05$ .

---

*DISCUSIÓN*

---

Resumen de resultados

Factor	Peso corporal y variables metabólicas	Actividad motora	Ansiedad	Estrategias de afrontamiento	
<b>En animales</b>					
<i>Género</i>	♂>♀ ganancia de peso corporal	♀>♂ cruces en SB		♀>♂ latencias más cortas ♀>♂ mayor nº de respuestas de evitación ♀>♂ más rápido criterio de aprendizaje ♀>♂ menores índices de <i>warm up</i>	
<i>Ejercicio</i>	TM no modificó peso corporal TM↓ niveles de RWART en grupos CAF TMH-CAF<CON-CAF y SED-CAF niveles de NEFAs y leptina	TM↑ cruces en ♂ en SB TM↓ cruces en ♀ en SB TM↑ distancia recorrida en OF	TM↑ cruces en ♂ en SB TM↓ defecaciones en SB TMH-CAF>CON-CAF y SED-CAF en tiempo de permanencia en zona central del OF	TM↑ nº de evitaciones TM↓ numero de intentos para lograr el criterio de aprendizaje TM♀ latencias de escape más cortas en primeros bloques TM♂ latencias más cortas que SED en todos los bloques TMH-CAF revierte efectos de déficit de adquisición en SB dado por dieta CAF	
<i>Dieta</i>	CAF>ST peso corporal, niveles sanguíneos de glucosa, insulina, triglicéridos y leptina	CAF↓ cruces en SB CAF↓ distancia recorrida en OF		CAF↓ el nº de evitaciones y ↓ crecimiento en latencias de escapada	
<b>En humanos</b>					
	<b>Estado nutricional</b>	<b>Condición física</b>	<b>Ansiedad</b>	<b>Rendimiento académico</b>	<b>Variables psicológicas</b>
<i>Género</i>	<u>Secundaria:</u> ♂>♀ peso corporal, altura/edad, ♂<% masa grasa <u>Universitarios:</u> ♂>♀ % masa muscular, ♂<♀ % masa grasa.	<u>Primaria:</u> ♂>♀ test de salto horizontal <u>Universidad:</u> ♂>♀ test STS y vo2max en test de esfuerzo	<u>Secundaria y universidad:</u> ♀>♂ puntaje total y todas las subescalas del SCAS	<u>Secundaria:</u> ♀34 ↑ promedio de notas en relación al resto de grupos	<u>Secundaria:</u> ♀<♂ en RSES ♀>♂ en CDI-S <u>Universidad:</u> ♀>♂ en CDI-S
<i>Estado nutricional</i>	<u>Primaria:</u> SPO>PN en PC <u>Secundaria y universidad:</u> SPO>NP % masa grasa, SPO<NP % masa muscular	<u>Primaria:</u> SPO<NP test STS, test de salto horizontal <u>Secundaria:</u> SPO<NP test STS	<u>Primaria:</u> NP>SPO en subescalas P/A y TOC <u>Secundaria:</u> SPO>NP en puntaje total SCAS. SPO>NP en subescalas TOC, TAG.		<u>Secundaria:</u> SPO>NP en CDI-S SPO♀ puntaje más alto en CDI-S

Discusión

		Universidad: SPO<NP en vo2max			
<i>Edad</i>			Secundaria: SPO♀34 puntaje más alto en SCAS SPO♀12 puntajes más alto en subescalas P/A y MDF SPO♀34 puntajes más altos en subescala TOC		Secundarias: SPO♀34 puntaje más bajo en RSES

**Tabla 1. Resumen de resultados** ♀=hembra/mujer, ♂=macho/hombre, TM=cinta trotadora, TMH= cinta trotadora intensidad alta, TML=cinta trotadora intensidad baja, CAF=dieta cafetería, ST=dieta estándar, SPO=sobrepeso/obesidad, NP=normopeso, 12=1º y 2º año de secundaria, 34=3º y 4º año de secundaria. RWART=%masa grasa retroperitoneal, PC=perímetro de cintura, NEFAs=ácidos grasos libres no esterificados, OF=campo abierto, SB=shuttle box, STS= test de sentarse y pararse, 6MWT= test de marcha de 6 min, v02max=consumo máximo de oxígeno, SCAS=Escala de ansiedad infantil de Spence, CDI-S= inventario de depresión infantil abreviado, RSES=escala de autoestima de Rosenberg, P/A=pánico y agorafobia, AS=Ansiedad de separación, FS=fobia social, MDF=miedo al daño físico, TOC=trastorno obsesivo compulsivo, TAG=trastorno de ansiedad generalizada.

*Ejercicio, peso corporal, metabolismo y consumo de alimentos*

El ejercicio moderado de 12m/min, 30 min/sesión, 4-5 días semana, durante 32 semanas no modificó la ganancia de peso en las ratas adultas, lo cual es consistente con un estudio anterior realizado en nuestro laboratorio (Lalanza et al 2012). Salim et al (2010) tampoco observaron cambios en el peso corporal, ni en el consumo de agua y alimento en ratas entrenadas (15 m/min, 30 minutos durante 4 semanas) en comparación con las no corredoras. Es conocido que para reducir el peso corporal de manera significativa es necesario hacer ejercicio de intensidades altas (Hansalik et al 2006; Strasser et al 2013). Es posible que el protocolo de entrenamiento utilizado en nuestro estudio (12 m/min) no fuera lo suficientemente intenso para disminuir el peso corporal. Ratas entrenadas 20 minutos diarios 5 días a la semana con una intensidad de 20 m/min disminuyeron el peso corporal en comparación con animales sedentarios (Hansalik et al 2006).

Por otro lado, las ratas adolescentes hembras alimentadas con dieta CAF aumentaron más el peso corporal que las alimentadas con dieta estándar y mostraron niveles plasmáticos de glucosa, insulina, triglicéridos y leptina más altos. Además, el hecho de que las ratas con dieta CAF consumieran de media menos agua y pienso, pero más líquidos (agua y leche) y sólidos (pienso estándar y alimentos de la dieta CAF) que las ratas alimentadas con dieta estándar indica que las ratas alimentadas con dieta CAF consumieran una cantidad de grasas y carbohidratos mayores que las consumidas por las ratas alimentadas con dieta estándar. En un estudio paralelo realizado por nuestro grupo de investigación que aún no se publicado en el cual medimos la composición corporal de los animales observamos que ratas alimentadas con dieta CAF durante 6 semanas presentaron un porcentaje de grasa superior y un porcentaje de masa magra inferior (medido con un resonador magnético) en relación a los alimentados con pienso estándar ST (datos no publicados, anexo1). Estos resultados son consistentes con el aumento el consumo de alimentos que produce la dieta CAF, principalmente de grasas y carbohidratos, generando así un hiperconsumo de alimentos con alta densidad calórica (Shafat et al 2009) y con el aumento de peso corporal y de masa grasa, la hiperglicemia, hiperinsulinemia e intolerancia a la glucosa producidos por dieta CAF (Sampey et al 2011; Caimari et al 2010; Brandt et al 2010).

El ejercicio disminuyó el incremento de masa grasa blanca retroperitoneal (RWART) en los animales alimentados con dieta CAF y también el aumento de triglicéridos. Además, y particularmente en las ratas corredores de alta intensidad, el ejercicio también disminuyó los niveles circulantes de ácidos grasos libres no esterificados (NEFAs) y de

leptina. Estos resultados son consistentes con otros estudios que han reportado menos peso corporal y grasa abdominal, disminución de los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en ratas obesas entrenadas con ejercicio aeróbico (Hung et al 2015; Higa et al 2014; Goularte et al 2012; Lanza et al 2012; Xu et al 2011). En nuestro estudio, las ratas obesas entrenadas en la cinta rodante ganaron significativamente menos peso corporal y grasa abdominal y presentaron mejores parámetros metabólicos que las ratas obesas sedentarias. En otro trabajo Higa TS et al (2014) encontraron que ratones macho alimentados con dieta CAF entrenados en cinta rodante de moderada intensidad tenían menos peso y masa grasa, y mostraron niveles inferiores de hiperglicemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa en comparación con ratones alimentados con dieta CAF sedentarios (Higa TS et al 2014).

Los beneficios del ejercicio aeróbico sobre indicadores plasmáticos de salud no sólo se han observado en animales obesos, sino también en animales de peso normal. Ratas entrenadas en cinta trotadora han mostrado niveles inferiores de glucosa basal, colesterol y triglicéridos en comparación con ratas no entrenadas (Lanza et al 2012; Susuki & Machida 1995). En estudios con humanos y en concordancia con los datos de los modelos animales, se han observado que un programa de ejercicio aeróbico de moderada intensidad mejora el perfil lipídico y la resistencia a la insulina de niños y adolescentes obesos en ausencia de cambios en el peso y la composición corporal (Bell L et al 2007). Los autores indican que el tiempo que duró el programa de intervención (8 semanas) no fue suficiente para reducir la masa grasa y el peso corporal.

En los estudios realizados con humanos, no se observaron efectos diferenciales de género en los estudiantes de educación primaria sobre las variables antropométricas medidas (IMC y perímetro de cintura). Sin embargo, los niños de secundaria presentaron mayor peso corporal, altura/edad y menor porcentaje de masa grasa que las niñas de secundaria; los estudiantes universitarios varones tenían un mayor peso corporal y porcentaje de masa muscular, y un menor porcentaje de masa grasa en comparación con las mujeres universitarias. Los resultados son consistentes con estadísticas nacionales que indican que las mujeres tienen mayor nivel de obesidad (medida con  $IMC \geq 30$ ) que los hombres (30,7% v/s 19,2%) (Minsal, Encuesta Nacional de Salud 2010). Además, son concordantes con datos de la OCDE que indican que para casi todos los países miembros, las mujeres, tanto adultas como niñas, tienen mayor nivel de obesidad que los hombres (NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC) 2015). Las razones de estas diferencias de género son multifactoriales. Por un lado, las mujeres presentan estilos de vida más sedentarios que los hombres. Así lo demuestra la encuesta nacional de Salud de Chile (2010) que indicó que las mujeres eran más

sedentarias que los hombres (medido con GPAQ) y estas diferencias eran más marcadas en las adolescentes y cuando las mujeres tenían un nivel educación bajo. Por otro lado, parece que las hormonas sexuales (estrógenos) reducen la capacidad para consumir energía después de comer, dando como resultado un mayor almacenamiento de grasas corporal en las mujeres. La pubertad, junto con la fase inicial del embarazo parecen ser los períodos de vida en que los niveles de estrógenos son más elevados, pudiendo ser vistos como estados en los que conviene almacenar grasas eficazmente como preparación para la fertilidad, el desarrollo fetal y la lactancia (O'Sullivan 2009).

Tal y cómo era esperable, los niños y niñas de primaria con sobrepeso/obesidad tuvieron un perímetro de cintura mayor que los niños y niñas del mismo curso con peso normal. Y los estudiantes de secundaria y universidad con sobrepeso/obesidad tenían un porcentaje de grasa mayor y un porcentaje de masa muscular menor que los estudiantes con normopeso del mismo curso/edad. Como era de esperar, tanto niños como niñas con sobrepeso/obesidad presentaron parámetros de adiposidad mayores que los niños y niñas con peso normal. Estos resultados concuerdan con los valores de referencia nacional que indican que las mujeres y los hombres chilenos con sobrepeso y obesidad tienen niveles de masa grasa, perímetro de cintura y pliegues cutáneos mayores que las mujeres y hombres con peso normal (MINSAL, Encuesta nacional de Salud 2010; MINSAL Encuesta nacional de consumo 2010).

### *Cambios en la actividad motora*

Las ratas hembra realizaron un mayor número de cruces entre compartimientos durante el periodo de habituación en la shuttle box en comparación con los machos. Estudios previos en animales han mostrado diferencias de género en variables conductuales de sintomatología ansiosa, estrategias de afrontamiento (Daviu et al 2014; Kokras et al 2014) o en variables físicas como nivel de actividad, equilibrio y fuerza (Sánchez-Roige et al 2014). López-Aumatell et al (2011) mostró consistentemente diferencias de sexo en los niveles de actividad en una batería de test conductuales (*elevated zero maze*, *novel cage*, *two way activity avoidance*) apoyando la idea que la conducta de las hembras está predominante influenciada por la actividad.

Además, las ratas hembras alimentadas con dieta CAF disminuyeron el número de *cruces* en la shuttle box y la distancia recorrida en los primeros 5 minutos en el campo abierto, siendo el grupo sedentario quien recorrió la distancia más corta de todos los grupos. Estos resultados son similares a los obtenidos en investigaciones previas que observaron que ratas obesas reducían la actividad motora en la *home cage* (Martire et

al 2013). En un estudio de nuestro laboratorio, las ratas alimentadas con dieta CAF hicieron menos cruces en el *hole board* y recorrieron distancias más cortas en los brazos cerrados del *elevated plus maze* (Lalanza et al 2014). Contrariamente, otros estudios no han encontrado diferencias en la actividad en el campo abierto en ratas alimentadas con dieta CAF durante 4 meses (Souza et al 2007).

El ejercicio aumentó también el número de cruces en los machos del primer estudio durante el período de habituación en la shuttle box. Las ratas hembras que corrieron en la cinta trotadora, independiente de la intensidad a la que habían sido entrenadas, recorrieron una distancia mayor en los primeros 5 minutos y al final de los 30 minutos que dura el campo abierto en comparación con los animales no entrenados. Además, el ejercicio revirtió parcialmente el descenso en el número de cruces en la SB que se observó en los animales alimentados con dieta CAF. Estos resultados indican que la dieta CAF disminuye la actividad motora y que el ejercicio es capaz de contrarrestar esta conducta más sedentaria, aumentando la actividad motora. Datos previos ya han mostrado un aumento de la actividad motora espontánea en animales entrenados a una intensidad moderada (12 m/min) en comparación con animales sedentarios (Lalanza et al 2012). Por otro lado, estudios que han utilizado intensidades más altas ( $\geq 20$  m/min) han reportado efectos inconsistentes sobre la actividad motora (García-Capdevila et al 2009; Leasure & Jones 2008; Fulk et al 2004; Burghardt et al 2004), por lo que futuras investigaciones acerca de los efectos del ejercicio en la actividad motora y en otras variables asociadas a la ansiedad deberán clarificar y diferenciar los efectos de protocolos de ejercicio a diferentes intensidades y duraciones.

En los estudios con humanos, se midió la condición física a través de los tests de sentarse pararse, de carrera de 12 metros y del salto horizontal a pies juntos y con un test de esfuerzo en cinta trotadora. Se observó que las niñas de primaria saltaban menos que los niños en el test de salto horizontal. No se observaron diferencias de género en la condición física en los estudiantes de secundaria y en cuanto a los estudiantes universitarios, los hombres hicieron más repeticiones en el test de sentarse y pararse y tuvieron un valor de  $vo_{2max}$  mayor en el test de esfuerzo en comparación con las mujeres. Estos resultados sugieren en términos generales de los hombres tienen una condición física mejor que las mujeres y están en línea con estudios previos que consistentemente han indicado que los niños y adolescentes presentan mejores valores en pruebas de condición física (sentarse pararse, *course navette*, test de marcha de 6 minutos) que las niñas y mujeres adolescentes (Rush et al 2014; Ruiz et al 2011). En el último estudio nacional de educación física (SIMCE de educación física 2015) se observó que las niñas de 8º año básico presentaban resistencia cardiovascular (medida

con el test de Cafra), potencia aeróbica máxima (medida con el test *course Navette*), fuerza y resistencia muscular (medido con prueba de abdominales y salto largo a pies juntos) más bajas que los niños del mismo curso.

Por otro lado, el estado nutricional influyó en la condición física de los participantes, de manera que los niños (a) s de primaria con sobrepeso/obesidad realizaron menos repeticiones en el test de sentarse y pararse y saltaron menos en el test de salto a pies juntos que los niños de peso normal. Los estudiantes de secundaria con sobrepeso/obesidad también hicieron menos repeticiones en el test de sentarse pararse que los estudiantes con normopeso. En los estudiantes universitarios se observó la misma tendencia, ya que tanto, hombres como mujeres con sobrepeso/obesidad tenían un  $vo_{2max}$  menor en el test de esfuerzo en comparación con los hombres y mujeres con normopeso. Nuestros resultados van en línea con otros estudios en niños y adolescentes de distintos países y etnias que han encontrado una correlación negativa entre el índice de masa corporal (IMC) y/o el porcentaje de masa grasa con los rendimientos en diferentes pruebas de condición física (Artero et al 2010; Castro-Piñero et al 2010; Castro-Piñero et al 2009). De forma consistente se ha observado que los adolescentes con sobrepeso/obesidad (medido con IMC, pliegues cutáneos o perímetro de cintura y densitometría ósea (DXA)) presentan peores resultados que los adolescentes con peso normal en pruebas de condición física (medida con test de sentarse pararse, test de salto horizontal, carrera de 20 metros, test de marcha de 6 minutos y test de esfuerzo en cicloergómetro) (Nunez-Gaunaud et al 2013; Moliner-Urdinales et al 2011; Ortega et al 2010; Ortega et al 2008; Ruiz et al 2006; Tokmakidis et al 2006). Joshi P et al (2012) encontraron una relación inversa entre obesidad y bajos niveles de condición física en más de 7000 niños de escuelas públicas de Estados Unidos (Joshi et al 2012) y Coelho e Silva MJ et al (2013) encontraron esta misma asociación entre IMC y porcentaje de masa grasa y capacidad cardio-respiratoria en más de 1000 niños de 11-15 portugueses (Coelho et al 2013).

### *Ansiedad*

En los experimentos con animales observamos que el ejercicio aeróbico, como ya se comentó previamente, aumentó el número de cruces y disminuyó las defecaciones de las ratas alimentadas con dieta CAF en la SB y aumentó el tiempo en la zona central del campo abierto. La disminución de la defecación, el incremento de la exploración y el tiempo en el centro del campo abierto son conductas etológicas que se han relacionado

con la disminución de las conductas asociadas a la ansiedad (Fernández-Teruel et al 2002). Estos resultados corroboran que el ejercicio aeróbico a intensidades moderadas puede tener efectos en la reducción de sintomatología ansiosa. Sin embargo, la literatura en roedores que estudia los efectos ansiolíticos del ejercicio es inconsistente. Estudios que han utilizado intensidades similares a las de nuestros estudios (14 m/min 60 minutos diarios) han encontrado efectos ansiolíticos en el *elevated plus maze*, *Open field* (Pietrelli et al 2012; Fulk et al 2004) y en la evitación activa en dos sentidos (Lalanza et al 2014). En cambio otro estudio con intensidades de 12 min/min 30 minutos diarios no encontró efectos ansiolíticos en una batería de test conductuales (Lalanza et al 2012).

En el estudio realizado con estudiantes de primaria no se observaron diferencias de género en el puntaje total de la escala de ansiedad infantil de Spence (SCAS), pero las niñas tuvieron puntuaciones más altas en la subcategoría de pánico y agorafobia que los niños. En los estudiantes de secundaria y universidad las mujeres tuvieron una puntuación más alta en el puntaje total y en todas las sub-escalas de la escala SCAS en comparación con los hombres, en concordancia con gran parte de la literatura que indica que las mujeres presentan puntajes más altos en las escalas de ansiedad (Zhao et al 2012). Algunos autores proponen que los mayores niveles de ansiedad de las niñas se encuentran alrededor de la pubertad cuando existe mayor presión social y familiar por tener un peso normal y perderlo si se ha ganado (Eresmis et al 2004). Otros autores han indicado que la mayor predisposición de las niñas a ser ansiosas en comparación con los niños podría estar determinadas genéticamente (Ginsburg et al 2000).

Con respecto a los efectos del estado nutricional, los resultados indicaron que los estudiantes de primaria con normopeso tuvieron puntajes más altos en la sub-escala de ataques de pánico/agorafobia (P/A) y en la de trastorno obsesivo compulsivo (TOC) que los estudiantes con sobrepeso/obesidad. Este resultado es divergente con la literatura previa que describe una asociación entre obesidad con altos niveles de ansiedad tanto en población clínica (Cilli et al 2003) como no-clínica (Jorn et al 2003). Por otro lado, los estudiantes de secundaria con sobrepeso/obesidad tuvieron puntajes totales más altos en la SCAS, y las estudiantes mujeres de cursos superiores mostraron los puntajes más altos de la muestra. Los estudiantes de secundaria con sobrepeso/obesidad tuvieron puntajes más altos en fobia social, trastorno obsesivo compulsivo y ansiedad generalizada en comparación con sus compañeros de peso normal. En las subcategorías de pánico/agorafobia y de miedo al daño físico las mujeres con sobrepeso/obesidad de 1º y 2º año de secundaria obtuvieron los mayores puntajes;

mientras que en la subcategoría de trastorno obsesivo compulsivo las mujeres con sobrepeso/obesidad de 3º y 4º año de secundaria obtuvieron los mayores puntajes. En los estudiantes universitarios no hubo efectos del estado nutricional.

Los resultados de los estudiantes de secundaria concuerdan con una asociación positiva entre el sobrepeso/obesidad y la ansiedad propuesta en una reciente revisión de Burke et al (2015). , en donde se propone además que el género y la edad tendrían influencias moduladoras en esta asociación. Así en los estudios donde participaron niñas con edades cercanas a los 12 años mostraron mayor asociación entre ansiedad y obesidad en comparación a estudios con niños de edades superiores a los 16 años.

### *Estrategias de afrontamiento a situaciones de estrés y rendimiento académico*

Observamos efectos diferenciales de género en la evitación activa en dos sentidos en las ratas adultas. Las hembras mostraron latencias de escapada más cortas, un mayor número de respuestas de evitación/escape y alcanzaron el criterio de aprendizaje antes que los machos. Además, a lo largo de las sesiones, las hembras mostraron un mayor incremento de las respuestas de evitación, una mayor disminución de latencias de escape y tuvieron índices de calentamiento menores que las ratas machos, lo que se interpreta como un mantenimiento de la conducta de evitación, adquirida de una sesión a la siguiente. Todo ello es consistente con un estudio previo que describe una mejor adquisición de la conducta de evitación y de escape en los animales que mostraban una mejor retención de una sesión a la siguiente (Servatius et al 2009). Por otro lado, es probable que el nivel basal de actividad mayor de las hembras en comparación con los machos las predisponga a que presenten la conducta de evitación activa durante las etapas iniciales del test (Dalla et al 2009).

Las ratas adultas machos y hembras alimentadas con dieta estándar que hicieron ejercicio moderado durante 32 semana mejoraron la evitación activa en dos sentidos en comparación con el grupo sedentario. Globalmente, el ejercicio aumentó el número de evitaciones y disminuyó el número de intentos para lograr el criterio de aprendizaje en comparación con los grupos sedentarios. Además, el ejercicio mostró efectos diferenciales de género, por un lado, las hembras entrenadas tuvieron latencias de escape cortas en los tres primeros bloques (ensayos 1-30) y adquirieron antes el criterio de aprendizaje que los machos. Los machos entrenados mostraron latencias de escapa más cortas que el grupo M-SED a lo largo de los bloques/sesiones. Ello indicó que los

efectos del ejercicio fueron mayores en las hembras durante la fase inicial de adquisición y que se mantuvieron durante más tiempo a lo largo de 2-5 sesiones en los machos.

Los animales alimentados con dieta CAF mostraron un menor número de evitaciones y latencias de escapada más largas, indicando que la dieta CAF genera déficit en la adquisición de la evitación activa en dos sentidos en la shuttle box, lo que sugeriría que la dieta CAF disminuye las respuestas de afrontamiento en circunstancias estresantes. En un estudio previo de nuestro grupo de investigación encontramos que ratas alimentadas con dieta CAF disminuían las conductas asociadas con la ansiedad en test de actividad espontánea (campo abierto y laberinto elevado en cruz) (Lalanza et al 2014). De manera consistente con estos resultados, estudios previos han mostrado que la dieta CAF reduce el impacto negativo del estrés temprano y la actividad del eje HPA en respuesta a un estrés crónico variable en ratas obesas (Zenni et al 2013). Contrariamente, un estudio mostró un aumento de la ansiedad y los niveles de cortisol basales en ratas obesas en comparación con ratas alimentadas con pienso (Buchenauer et al 2009). Probablemente la forma de presentación (piensos con altos niveles de grasa, grasa de cerdo, leche azucarada o agua con altas cantidades de fructosa) de los alimentos escogidos pueden explicar parcialmente estos resultados, aunque se requieren nuevas investigaciones para confirmarlo (Lozano et al 2016; Sampey et al 2011)

Las ratas hembras alimentadas con dieta CAF y entrenadas a una intensidad moderada-alta (16 m/min) revirtieron parcialmente el déficit de adquisición en la shuttle box que presentaban las ratas sedentarias alimentadas con dieta CAF. Globalmente, los animales alimentados con dieta CAF entrenados mostraron un aumento mayor en el número de evitaciones y un decrecimiento mayor de las latencias de escapada que los animales no entrenados y el grupo TMH-CAF logró aumentar significativamente el número de evitaciones en el último bloque respecto del primer bloque. Ello no ocurrió en los animales alimentados con dieta CAF no entrenados.

Los resultados de ambos estudios son coherentes entre si y demuestran que la práctica del ejercicio aeróbico de intensidad moderada-alta (entre 12-16 m/min) mejora la adquisición de estrategias de afrontamiento activas en entornos amenazantes en animales adultos normopeso cuando se practica durante 36 semanas; en animales obesos cuando se practica durante 8 semanas. Nuestros resultados son coherentes con investigaciones previas en las cuales el ejercicio en cinta trotadora disminuyó la sintomatología asociada a la ansiedad en el campo abierto o el laberinto elevado en cruz utilizando protocolos de 12-15 m/min de 4 a 5 días por semana (Pietrelli et al 2012;

Salim et al 2010; Fulk et al 2004). Si bien algunos resultados no son consistentes (Burghardt et al 2004), quizás pueda ser debido al uso de programas y parámetros de ejercicio diferentes (Lalanza et al 2012; Pietrelli et al 2012; Salim et al 2010, Burghardt et al 2004).

Otro factor que podría inducir resultados inconsistentes del ejercicio en la cinta rodante es el tipo de test utilizado para evaluar los efectos. Así puede ocurrir que el ejercicio tenga mayor impacto en test más demandantes y que implican la participación de funciones cognitivas más complejas (tipo shuttle box) en comparación con test de actividad espontánea (tipo campo abierto o laberinto elevado en cruz). Estudios en los cuales se ha evaluado a los animales entrenados y animales control en una batería de test de actividad espontánea (*hole board*, *elevated plus maze*, *open field*) no encontraron diferencias entre los grupos (Lalanza et al 2012).

En búsqueda de determinar una dosis “terapéutica”, estudios en animales han utilizado protocolos de ejercicio que van de 1 a 32 semanas de duración, intensidades de ejercicio que van de 12 m/min hasta 30 m/min y frecuencias de 1, 3, 5, 7, sesiones de entrenamiento a la semana. En general, la cinta rodante es más eficiente en la reducción de la sintomatología asociada a la ansiedad cuando se utilizan intensidades moderadas (entre 12 y 18 m/min), tiempos entre 30 y 60 minutos diarios (Fulk et al 2004; Pietrelli et al 2012) en comparación intensidades altas ( $\geq 20$  m/min) que no han mostrado efectos de disminución de la sintomatología ansiosa (Burghardt et al 2004), o del miedo condicionado (Greenwood et al 2013). Además, intensidades altas de ejercicio ( $> 20$  m/min) generan estrés oxidativo en el hipotálamo y la amígdala (medido por la peroxidación de lípidos y oxidación de proteínas) (Rosa et al 2007) y aumentan la ansiedad en el campo abierto, el laberinto elevado en cruz y en el *hole board*) (Masood et al 2008; de Olivera et al 2007).

Por otro lado, el grupo control que fue manipulado y que se colocó diariamente sobre la cinta rodante a velocidad 0 m/min mostró algunos cambios en la misma línea que el grupo de animales corredores. De hecho, los animales manipulados y los corredores mostraron un número de evitaciones y latencias de escapada similares durante los primeros bloques de ensayos en la shuttle box. En el estudio 1B, los animales manipulados y los corredores hicieron distancias en el campo abierto y latencias de escapada en la shuttle box similares. Varios estudios han sugerido que procedimientos de manipulación, incluso menos intensivos y breves de lo que implica la manipulación diario de colocar a los animales en la cinta rodante que hemos utilizado en nuestros estudios, implican un aumento de la estimulación ambiental y del animal y por tanto,

pueden modificar perfiles de actividad, de exploración o de ansiedad (Pena et al 2009; Simpson et al 2011; Lanza et al 2012). Trabajos previos ya habían detectado efectos beneficiosos de la manipulación de la cinta rodante en la orientación espacial (O'Callaghan et al 2009) y de procedimientos de manipulación en la disminución de conductas asociadas con la ansiedad y en la mejora de la adquisición de la evitación activa en dos sentidos (shuttle box) (Nuñez et al 1995; Escorihuela et al 1991). Por ello, no descartamos que la manipulación de los roedores a la cinta rodante pueda contribuir a los efectos del ejercicio en la disminución de la ansiedad, si bien futuros estudios deberán clarificar esta hipótesis.

La mejora del ejercicio sobre la evitación en dos sentidos indica que el ejercicio podría modular las estrategias afrontamiento en situaciones de estrés y/o amenaza, y facilitar el paso de estrategias pasivas a estrategias activas, tal y como lo hacen las terapias cognitivo-conductuales efectivas para la depresión y los desórdenes de ansiedad (Steimer et al 2011). Este cambio a conductas activas de afrontamiento podría sustentarse en la disminución de la actividad del sistema de inhibición conductual, la activación del cual se ha asociado a la presencia de sintomatología ansiosa en estudios en humanos (Bijttebier et al 2009).

En ambientes académicos, los exámenes de conocimientos o las exposiciones en público son considerados eventos de gran estrés y en algunos estudios se utilizan como un estresor agudo para medir las respuestas en los estudiantes (Torres et al 2007; Adam & Epel 2007). Por ejemplo, se ha evaluado cuanto aumentan los niveles de cortisol posterior a un discurso en público (Epel et al 2001) o si se modifica el consumo de alimentos posteriormente a un examen (Michaud et al 1990). En nuestro estudio utilizamos las notas de los estudiantes, la cual puede entenderse también como una variable de rendimiento en una situación académica estresante, sobre la cual analizamos las diferencias de género, estado nutricional y edad. En los estudiantes de primaria no detectamos efectos de género o de estado nutricional en la media de notas de matemáticas y lenguaje. En los estudiantes de secundaria detectamos que las mujeres de 3º y 4º año presentaron las mejores notas en comparación con el resto de grupos. En los estudiantes universitarios tampoco observamos efectos del género o del estado nutricional en el rendimiento académico.

Algunos estudios sugieren una relación negativa entre el sobrepeso/obesidad y el rendimiento académico. Por ejemplo, Kamijo K et al (2012) en niños de 7-10 años encontraron que el IMC y el porcentaje de masa grasa estaban negativamente asociados con el rendimiento en 3 pruebas estandarizadas (Kamijo et al 2012) o Mo-

Suwan et al (1999) encontraron que niños obesos entre 7º y 9º grado tenían peores notas en matemáticas y lenguaje. Sin embargo, en nuestro estudio no detectamos diferencias del género o del estado nutricional en el rendimiento académico en los estudiantes de primaria, secundaria y universidad. Lo cual también es consistente con otros estudios (Baxter et al 2013). Las discrepancias probablemente se deban a las diferencias en la metodología del estudio, al tipo de prueba administradas para medir el rendimiento académico (auto-informes, cuestionarios, promedios de notas, puntuación de la prueba) o a las variables utilizadas para clasificar el estado nutricional (índice de masa corporal, circunferencia de la cintura, peso corporal, pliegues cutáneos) (Gustand et al 2008).

### *Cambios en variables psicológicas*

Los resultados indicaron que las estudiantes mujeres de secundaria tuvieron puntajes más bajos en la escala de auto-estima de Rosenberg (RSES) que los hombres. Además, las estudiantes mujeres de secundaria y de universidad tuvieron puntajes más altos en el inventario de depresión abreviado (CDI-S) que los hombres. Los resultados en la RSES son consistentes con estudios previos que indican que los hombres tienen una autoestima más alta que las mujeres medida con la RSES (Martín-Albo et al 2007) y que estas diferencias son más pronunciadas en la adolescencia (Moreno et al 2005). Estas diferencias en la auto-estima se han visto consistentemente en poblaciones adolescentes hispanoamericanas y norteamericanas y en parte podrían ser debido al distinto nivel de importancia que presenta la autoimagen física para las mujeres en comparación con los hombres (Moreno et al 2005; Del Barrio et al 2002; Stice & Bearman 2001). Es posible que estas diferencias decrezcan después de la pubertad y ello explique porque no se observaron diferencias de autoestima en los estudiantes universitarios. Los resultados de los puntajes en la CDI-S también son consistentes con la literatura previa que indica que las mujeres presentan una mayor sintomatología depresiva medida con CDI y CDI-S que los hombres (Algabier et al 2012; Houghton et al 2003; del Barrio et al 2002). Esta diferencia comienza a observarse alrededor de los 13-15 años para luego en la adultez ser la cantidad de mujeres diagnosticadas con depresión el doble que la de los hombres (Hankin et al 2001). Además, los modelos que integran factores afectivos (reactividad emocional), biológicos (vulnerabilidad genética, la pubertad, su desarrollo y hormonas) y cognitivos (la conciencia del cuerpo, estilos de resolución de problemas) han mostrado que las tasas más altas de depresión se dan en mujeres, comenzando a partir de la adolescencia y aumentando con la edad. Lo que

explicaría porque en estudiantes secundarios y universitarios se observó la diferencia de género en los puntajes del CDI-S (Hyde et al 2008).

El estado nutricional también tuvo efectos en las variables psicológicas. Así, los estudiantes de secundaria con sobrepeso/obesidad mostraron puntajes más bajos que los estudiantes de secundaria de peso normal en la escala de auto-estima y puntajes más altos en el test de sintomatología depresiva. Las mujeres con sobrepeso/obesidad de 3° y 4° año tuvieron el puntaje más bajo en la escala de auto-estima y las mujeres con sobrepeso/obesidad la puntuación más alta en el inventario de depresión. En los estudiantes universitarios no se observaron efectos del estado nutricional en la auto-estima y sintomatología depresiva. Nuestros resultados están en concordancia con estudios que indican que la obesidad y la baja autoestima están asociados, principalmente en las mujeres debido a la insatisfacción con la cual perciben su la auto-imagen (Gálvez et al 2015) y con estudios que han encontrado una asociación entre la obesidad (medida con IMC) y el diagnóstico de depresión, principalmente en mujeres (Johnston et al 2004; Onyke et al 2003). Aun cuando la gran mayoría de estudios han encontrado la asociación entre obesos en tratamiento para perder peso o en adolescentes diagnosticados con depresión mayor y no lo han hecho en muestras no clínicas como fue el caso de nuestro estudio (McElroy et al 2004; Goodman et al 2002)

#### *Aspectos terapéuticos del ejercicio físico*

Una elección correcta de estrategias de afrontamiento o de mecanismos de defensa frente a situaciones amenazantes puede ayudar a disminuir el impacto del estrés y protege al organismo de sus consecuencias a largo plazo (Steimer et al 2011). Por lo tanto, la valoración de riesgos inadecuada puede producir ansiedad en términos de conductas de evitación, hipervigilancia o excesiva preocupación (Wall et al 2001).

Según la última encuesta (2015) de la Asociación Americana de Psicología (APA) un tercio de la población americana vive en un estado de estrés extremo, presentándose niveles medios de estrés más altos en las mujeres que en los hombres (5,3 versus 4,9) y en los jóvenes que en los adultos (6,0 versus 3,5). Este alto nivel de estrés contribuye a la aparición de problemas de salud, relaciones sociales deficientes y pérdida de productividad laboral. Entre los principales síntomas físicos del estrés se encuentran: fatiga; dolores de cabeza y cambios de apetito, entre los síntomas psicológicos figuran: irritabilidad o enojo, nerviosismo, falta de energía y tristeza. Otros perjuicios del estrés sobre la salud en niños y adolescentes son comer en exceso, navegar por internet y/o

mirar televisión más de 2 horas durante periodos de estrés. Como contraste entre las conductas utilizadas para controlar el estrés se encuentran escuchar música, leer y hacer ejercicio físico. Apuntando que la práctica del ejercicio podría ser prescrita como una herramienta terapéutica protectora en grupos de población de mayor riesgo afectados fisiológica y psicológicamente por el estrés.

El ejercicio físico, principalmente aeróbico de intensidad moderada-alta ha demostrado tener efectos beneficiosos en el control de la sintomatología ansiosa tanto en adultos (ver revisión Wegner et al 2014) como en niños y adolescentes (ver revisión Larun et al 2006). Ströhle et al (2007) en un estudio con una muestra de 2548 (14-24 años) encontró que quienes practicaban actividad física regularmente (más de 3 veces por semana) estaban asociados con una menor prevalencia de desórdenes de ansiedad. Además, las personas que practicaban regularmente ejercicio tenían menor riesgo de presentar cualquier patología mental, principalmente ansiedad. Merom et al (2008) prescribió ejercicio en el contexto de reuniones breves que siguieron a las sesiones de terapia cognitivo-conductual (TCC) que consistía en caminatas cerca de casa de 30 minutos 5 veces por semana durante 8 semanas a una intensidad moderada. En la reunión inicial, a los pacientes se les daban podómetros y agendas para registrar la actividad física. Encontraron que a los pacientes que se les adicionó ejercicio a la TCC presentaron menos ansiedad y estrés al final del programa que quienes sólo tenían TCC. En la actualidad, si se desea, las personas con trastornos de ansiedad tienen a disposición guías terapéuticas (Smith et al 2009), libros de ejercicios para pacientes (Otto et al 2009) y los libros de autoayuda (Otto et al 2011) disponibles que facilitan el proceso terapéutico a través del ejercicio.

Hasta la fecha, se ha prestado poca atención a la contribución del ejercicio en la prevención de desórdenes mentales como la depresión y la ansiedad. La psicoterapia, las intervenciones psicosociales y farmacológicas son los tratamientos más comunes que se utilizan en pacientes que sufren de depresión y ansiedad, a veces se incorporan técnicas de manejo del estrés y de vez en cuando programas de actividad física (Ekeland 2003). A favor de la inclusión definitiva del ejercicio físico como un complemento terapéutico en personas con depresión y/o trastornos de ansiedad existen varias ventajas asociadas: La implementación de un programa de ejercicio es barato, el ejercicio de intensidad moderada prácticamente no tiene efectos secundarios negativos e incluso podría tener efectos secundarios positivos (mejora de la auto-estima, auto-imagen). Además, el ejercicio puede ser auto-sustentable, de manera que el individuo puede realizarlo autónomamente una vez que las habilidades básicas se han aprendido (Crawford et al 2002).

Por otro lado, se ha observado que el tratamiento con antidepresivos (amitriptilina tricíclica, nortriptilina y la imipramina y la mirtapazina) se asocia a largo plazo con una ganancia de peso corporal (Lee et al 2016). De manera que una intervención de ejercicio físico asociada al tratamiento farmacológico podría, en parte, contrarrestar el aumento de peso en los pacientes.

Conocer la relación dosis-respuesta entre el ejercicio y la reducción de la ansiedad es todavía imposible, por lo que entregar una “receta” de la dosis terapéutica. Pese a esto, parece que algunos parámetros podrían presentar mayores efectos. Por ejemplo, programas de duración de al menos 10 semanas, o sesiones de más de 20 minutos de duración resultaron ser efectivos en la reducción de la ansiedad estado (Petruzzello S et al 1991) y frecuencias de 3 o 4 veces por semana son más efectivas que frecuencias inferiores (Wipfli BM et al 2008).

La condición física constituye una medida integrada de todas las funciones y estructuras que intervienen en la realización de actividad física o ejercicio. Estas funciones son la musculoesquelética, cardiorrespiratoria, hematocirculatoria, endocrinometabólica y psiconeurológica. Un alto nivel de condición física implica una buena respuesta fisiológica de todas ellas. La condición física comprende un conjunto de cualidades físicas tales como la capacidad aeróbica, fuerza y resistencia muscular, movilidad articular, velocidad de desplazamiento, agilidad, coordinación y equilibrio. De todas las cualidades que componen la condición física, la capacidad aeróbica y la fuerza muscular han sido las que han adquirido una mayor relevancia científica en el ámbito sanitario, se consideran importantes marcadores relacionados con la salud en la infancia (Ortega et al 2013) y podrían ser buenos predictores de longevidad y calidad de vida relacionada con la salud (Laukkanen et al 2001). La infancia y la adolescencia, son periodos críticos para el aprendizaje de los hábitos de salud que van a determinar el estilo de vida en la edad adulta (de Bourdeaudhuij et al 2010). En este sentido, la detección temprana de indicadores de salud permite generar la base para el diseño e implementación de estrategias para niños y adolescentes orientadas a reducir futuras enfermedades (Vander et al 2014).

Evidencias actuales indican que niveles elevados de actividad física en la infancia o la adolescencia, especialmente de actividad física de alta intensidad, se asocian con menores cantidades de grasa corporal total y de porcentaje de masa grasa, y no solo durante estas etapas de la vida sino también en el futuro (Stevens et al 2007; Janz et al 2005). Además, la capacidad aeróbica en niños y adolescentes también se relaciona inversamente con los niveles de grasa corporal que presentan en esta edad y años

después en la vida adulta (Twisk et al 2002; Twisk et al 2000). Twisk et al (2000) analizaron la capacidad aeróbica de adolescentes de 13 a 16 años y la grasa corporal que estos participantes presentaban a la edad de 32 años. Los adolescentes con mayores niveles de capacidad aeróbica también tuvieron menores niveles de grasa corporal total (sumatorio de 4 pliegues cutáneos) y troncular (ratio entre circunferencia de cintura y cadera) a la edad de 32 años. Lo cual sugiere que incrementar el nivel de forma física en niños y adolescentes con sobrepeso podría tener efectos beneficiosos presentes y futuros en diferentes indicadores de su estado de salud.

Con el objetivo de cuantificar la cantidad mínima de ejercicio necesario para mantener una buena condición de salud la Organización Mundial de la Salud (OMS) desarrolló las recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud (2010) (WHO, Recomendaciones mundiales de actividad física 2010). En las que se estableció la frecuencia, la duración, la intensidad, el tipo y la cantidad total de actividad física necesaria para mantener un buen estado de salud en grupos de edades de 5-17 años, de 18-64 años y de más de 65 años.

- Para el grupo de 5 a 17 años se recomienda que los niños y jóvenes realicen un mínimo de 60 minutos diarios de actividad física aeróbica de intensidad moderada-vigorosa. Además, tres veces por semana deberían incorporarse actividades vigorosas que refuercen los músculos y huesos y ayuden al control de peso corporal.
- Para el grupo de 18-64 años, los adultos deberían acumular un mínimo de 150 minutos semanales de actividad física aeróbica moderada, o bien 75 minutos de actividad física aeróbica vigorosa. Además, dos veces por semana deberían realizar actividades de fortalecimiento de los grandes grupos musculares.
- Para la población de más de 65 años se recomienda que los adultos dediquen 150 minutos semanales a realizar actividades físicas moderadas aeróbicas, o bien algún tipo de actividad física vigorosa aeróbica durante 75 minutos, o una combinación equivalente de actividades moderadas y vigorosas.

En un amplio sentido, los resultados de los estudios con humanos de la presente tesis podrían aportar información sobre factores que modifican la salud física y mental de niños y adolescentes. Los datos encontrados pueden ayudar a ampliar el conocimiento existente sobre hábitos de salud, salud física y mental de los adolescentes, quienes son un componente integral para el desarrollo de intervenciones más eficaces, en particular para los niños y adolescentes obesos que no han tenido éxito en la pérdida de peso (Epstein et al 1994).

*Dieta cafetería, ¿Puede revertir estados emocionales negativos?*

El estrés crónico se ha asociado con una mayor preferencia de alimentos calóricos y energéticamente densos, principalmente alimentos sabrosos altos en azúcar y grasa (Torres et al 2007). Se ha comprobado que existe un incremento de consumo de alimentos sabrosos producto de estresores agudos en condiciones de laboratorio (tareas altamente desafiantes con un tiempo irrealista para lograrlas) (Epel et al 2001) y como consecuencia de eventos estresores ocurridos en condiciones naturales (examen a estudiantes) (Weidner G 1996). Además, los estados de ánimo negativos tales como la depresión y la ansiedad han mostrado aumentar el deseo de consumir alimentos sabrosos (Willner et al 1998). Sin embargo, no está claro si el consumo de alimentos sabrosos puede revertir los estados emocionales negativos en personas que se encuentran en situaciones de estrés. Por un lado, algunos autores han descrito el consumo de alimentos sabrosos como un tipo de “*auto-medicación*” con alimentos orientada a disminuir la ansiedad y el estrés (Finch et al 2015; Sinha et al 2013; Dallman et al 2005), otorgándole un posible valor terapéutico anti-estrés (Maniam et al 2010). Por otro lado se han diseñado intervenciones terapéuticas orientadas a eliminar los alimentos sabrosos dentro de las opciones terapéuticas para controlar el estrés y la ansiedad (Meekuns et al 2012). En un reciente estudio realizado con estudiantes universitarios (n=2379, 18-19 años) se mostró por primera vez en un estudio experimental que la asociación entre los eventos adversos sufridos durante la vida (medido con un auto-reporte) y el estrés percibido (medido con la escala de estrés percibido (PSS)) eran dependientes del consumo de alimentos sabrosos mientras experimentaban ciertas emociones negativas ( $p=0,033$ ). Así, el efecto de los eventos adversos en la percepción del estrés fue atenuado en los adolescentes que comían alimentos sabrosos comparado con los que no comían alimentos sabrosos ( $p=0,004$ ) (Finch et al 2015).

¿Existen diferencias si se compara la alimentación inducida por estrés frente a otras estrategias conductuales de afrontamiento a situaciones de estrés tales como hacer deporte, ver televisión? Balantekin et al (2012) observaron que los escolares (n=30 de 8-12) aumentaban el consumo de alimentos sabrosos en los días con actividades estresantes (dar un discurso en público) en comparación con días con actividades no estresantes (hacer puzles) aun cuando otras estrategias de afrontamiento como ver televisión y realizar actividad física estaban disponibles simultáneamente. La alimentación a base de alimentos sabrosos podría ser una de las mayores estrategias

de afrontamiento frente a situaciones estresantes que poseen los niños y adolescentes, aun cuando se tenga otras alternativas conductuales disponibles.

Así, el consumo de alimentos sabrosos podría ayudar a hacer frente a emociones negativas, disminuir el estrés y la ansiedad (Finch et al 2015), pero como contrapartida puede inducir ganancia de peso descontrolada y alteraciones metabólicas, considerándose un determinante crucial en el aumento de la prevalencia de la obesidad en la sociedad actual (de Macedo et al 2016; Pandit et al 2012). En esta línea, algunos autores recomiendan someterse a intervenciones terapéuticas que incluyan pautas y recomendaciones orientadas a perder peso para mejorar las alteraciones fisiológicas asociadas con trastornos de salud mental (Fox et al 2015; Lopresti & Drumond, 2013). Eyres et al (2014) en una revisión actual sobre pérdida de peso y mejora de la sintomatología ansiosa en la población con sobrepeso y obesidad encontró que en el 45% de los artículos seleccionados la ansiedad disminuía. Aun cuando no parece ser una evidencia suficientemente robusta que indique que la pérdida de peso tiene efectos beneficiosos en el control de la ansiedad, ninguno de los estudios que evaluó la pérdida de peso inducida por restricciones dietarias tuvo un efecto negativo sobre la ansiedad. En esta línea, programas de pérdida de peso han reportado mejoras significativas en la auto-confianza, en la imagen corporal, la motivación, las relaciones personales, y la calidad de vida en general. Estas mejoras en la actitud y el bienestar emocional pueden tener un efecto positivo sobre los niveles de ansiedad (Karlsson et al 2007; Wadden et al 1996).

Futuros estudios deberán investigar si comer frutas y verduras podría usarse como una herramienta de apoyo para el manejo del estrés y la ansiedad sin la necesidad de agregar alimentos con grasa, azúcar o contenidos calóricos tradicionalmente utilizados como alimentos sabrosos. De hecho, en lugar de utilizar una alimentación tipo dieta cafetería algunos investigadores ya han comenzado a hacer intervenciones con el objetivo de promover una alimentación saludable para reducir el estrés en lugar de una alimentación poco saludable, encontrando que en condiciones experimentales (estudio randomizado donde el grupo experimental se le entrega psicoterapia orientada a manejar el estrés con alimentos saludables y grupo control con psicoterapia convencional) los participantes más motivados hacia una alimentación saludable consumían una mayor cantidad de alimentos saludables en un día estresante (O'Connor et al 2015).

---

*CONCLUSIONES*

---

### *En animales*

1. . Las ratas hembras adultas alimentadas con dieta CAF aumentaron el peso corporal, el % de masa grasa retroperitoneal, los niveles plasmáticos de glucosa, insulina, triglicéridos, leptina y disminuyeron la sensibilidad a la insulina.
2. Las ratas hembras adultas alimentadas con dieta CAF disminuyeron la actividad motora espontánea.
3. El ejercicio aeróbico de moderada intensidad no disminuyó el peso corporal en ratas alimentadas con pienso estándar y el ejercicio de moderada y alta intensidad tampoco lo logra en ratas alimentadas con dieta CAF
4. El ejercicio aeróbico de moderada y alta intensidad disminuyó el porcentaje de masa grasa retroperitoneal y el ejercicio de alta intensidad disminuyó los niveles sanguíneos de NEFAs y leptina en las ratas con dieta CAF.
5. El ejercicio aeróbico de moderada y alta intensidad aumentó la actividad motora de las ratas alimentadas con dieta CAF.
6. El ejercicio aeróbico de intensidad moderada mejoró el rendimiento en el test de evitación activa en dos sentidos, observando diferencias de género.
7. El ejercicio aeróbico de intensidad moderada no cambio la respuesta hormonal del eje HPA después de una situación de estrés (shuttle box).
8. El ejercicio aeróbico de intensidad alta disminuye la sintomatología asociada con la ansiedad en ratas alimentadas con dieta CAF y mejoró parcialmente las estrategias de afrontamiento, aumentando las conductas de evitación activas en la SB.

### *En humanos*

1. Los estudiantes Chilenos de primaria, secundaria y universidad presentaron altas tasas de sobrepeso y obesidad en relación a valores de referencia nacional
2. Los estudiantes hombres de secundaria y universidad presentaron un mejor estado nutricional que las mujeres.
3. Los estudiantes hombres de primaria, secundaria y universidad presentaron mejor rendimiento en los test de condición física que las mujeres.
4. Las estudiantes mujeres de secundaria tuvieron puntajes más bajos en la escala de auto-estima y más altos en la escala de ansiedad que los hombres y las estudiantes mujeres de secundaria y de universidad tuvieron puntajes más altos en el inventario de depresión que los hombres.

## Conclusiones

5. No se observaron diferencias en el rendimiento académico dadas por género o estado nutricional.
6. Los estudiantes de primaria, secundaria y universidad con sobrepeso/obesidad presentaron puntajes más bajos en los test de condición física que los estudiantes de peso normal.
7. Los estudiantes de secundaria con sobrepeso/obesidad, principalmente mujeres presentaron puntajes más altos en la escala de ansiedad, en el inventario de depresión y más bajo en la escala de autoestima en comparación con los estudiantes con normopeso.



---

*REFERENCIAS*

---

1. Aberg MA, Pedersen NL, Torén K, Svartengren M, Bäckstrand B, et al. Cardiovascular fitness is associated with cognition in young adulthood. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Dec 8;106(49):20906-11.
2. Adam TC, Epel ES. Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav*. 2007 Jul 24;91(4):449-58. Epub 2007 Apr 14.
3. Algaier AK, Frühe B, Pietsch K, Saravo B. Is the Children's Depression inventory short version a valid screening tool in pediatric care? A comparison to its full-length version. *J Psychosom Res* 2012;73:369-374.
4. Allen M. The psychobiology of athletic training. In: Begel D, Burton RW, editors. *Sport psychiatry: theory and practice*. New York: W. W. Norton & Company; 2000. p. 22-44.
5. Allison DB, Newcomer JW, Dunn AL, Blumenthal JA, Fabricatore AN, Daumit GL, et al. Obesity among those with mental disorders: a National Institute of Mental Health meeting report. *Am J Prev Med* 2009;36(4):341–50.
6. Alsiö J, Roman E, Olszewski PK, Jonsson P, Fredriksson R, Levine AS, et al. Inverse association of high-fat diet preference and anxiety-like behavior: a putative role for urocortin 2. *Genes Brain Behav*. 2009; 8:193–202.
7. Anderson SE, Cohen P, Naumova EN, Must A. Association of depression and anxiety disorders with weight change in a prospective community-based study of children followed up into adulthood. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2006;160(3):285–291.
8. Ang ET, Dawe GS, Wong PT, Moochhala S & Ng YK. Alterations in spatial learning and memory after forced exercise. *Brain Res* 2006; 1113: 186–193.
9. Ang ET, Gomez-Pinilla F. Potential therapeutic effects of exercise to the brain. *Curr Med Chem* 2007;14(24):2564-71.
10. Archer J. Test for emotionality in rats and mice: a review. *Anim Behav* 1973;21:205-35.
11. Asociación Americana de Psicología (APA) [disponible: <http://www.apa.org/> ], [consultado: 10 de septiembre del 2016].
12. Artero EG, España-Romero V, Ortega FB, Jiménez-Pavón D, Ruiz JR, Vicente-Rodríguez G, et al. Health-related fitness in adolescents: underweight, and not only overweight, as an influencing factor. *The AVENA study*. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2010; 20, 418-427.
13. Asmundson, G. J. et al. Let's get physical: a contemporary review of the anxiolytic effects of exercise for anxiety and its disorders. *Depress Anxiety* 2013;30, 362–373.

14. 14. Balantekin KN, Roemmich JN. Children's coping after psychological stress. Choices among food, physical activity, and television. *Appetite*. 2012 Oct;59(2):298-304.
15. Balk EM, Earley A, Raman G, Avendano EA, Pittas AG, Remington PL. Combined Diet and Physical Activity Promotion Programs to Prevent Type 2 Diabetes Among Persons at Increased Risk: A Systematic Review for the Community Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2015 Sep 15;163(6):437-51.
16. Barnes CA, Forster MJ, Fleshner M, Ahanotu EN, Laudenslager ML, Mazzeo RS, Maier SF, Lal H.. Exercise does not modify spatial memory, brain autoimmunity, or antibody response in aged F- 344 rats. *Neurobiol Aging* 1991;12:47–53.
17. Baxter SD, Guinn CH, Tebbs JM, Royer JA. There is no relationship between academic achievement and body mass index among fourth-grade, predominantly African-American children. *J Acad Nutr Diet*. 2013;113:551–557.
18. Beck AT, Steer RA. Manual for the Beck Anxiety Inventory. Psychological Corporation: San Antonio 1993.
19. Bell LM, Watts K, Siafarikas A, Thompson A, Ratnam N, Bulsara M, et al. Exercise alone reduces insulin resistance in obese children independently of changes in body composition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Nov;92(11):4230-5.
20. Bellisle F. Assessing various aspects of the motivation to eat that can affect food intake and body weight control. *Encephale*. 2009 Apr;35(2):182-5.
21. Bennett J, Greene G, Schwartz-Barcott D. Perceptions of emotional eating behavior. A qualitative study of college students. *Appetite*. 2013 Jan;60(1):187-92.
22. Bentley DJ, Newell J, Bishop D. Incremental exercise test design and analysis: implications for performance diagnostics in endurance athletes. *Sports Med*. 2007;37(7):575-86.
23. Berger BG, Friedmann E, Eaton M. Comparison of jogging, the relaxation response, and group interaction for stress reduction. *Journal of Sport & Exercise Psychology* 1988;10:431–447.
24. Bertiere MC, Mame Sy T, Baigts F, Mandenoff A, Apfelbaum M. Stress and sucrose hyperphagia: role of endogenous opiates. *Pharmac Biochem Behav* 1984;20:675–9.

25. Best JR. Effects of Physical Activity on Children's Executive Function: Contributions of Experimental Research on Aerobic Exercise. *Dev Rev* 2010; 30: 331-551.
26. Bhui K, Fletcher A. Common mood and anxiety states: gender differences in the protective effect of physical activity. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 2000;35:28–35.
27. Biddle SJ, Asare M. Physical activity and mental health in children and adolescents: a review of reviews. *Br J Sports Med*. 2011 Sep;45(11):886-95.
28. Bijttebier P, Beck I, Claes L, Vandereycken W. Gray's Reinforcement Sensitivity Theory as a framework for research on personality-psychopathology associations. *Clin Psychol Rev*. 2009;29:421-430.
29. Blair SN, Morris JN. Healthy hearts-and the universal benefits of being physically active: physical activity and health. *Ann. Epidemiol* 2009; 19: 253-256.
30. Blier P, de Montigny C. Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci* 1994; 15(7): 220-6.
31. Braet C, Claus LF, Goossens LF, et al. Differences in eating style between overweight and normal-weight youngsters. *J Health Psychol*. 2008;13:733-743.
32. Brandt N, De Bock K, Richter EA, Hespel P. Cafeteria diet-induced insulin resistance is not associated with decreased insulin signaling or AMPK activity and is alleviated by physical training in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299:E215-224.
33. Broman-Fulks JJ, Berman ME, Rabian BA, Webster MJ. Effects of aerobic exercise on anxiety sensitivity. *Behav Res Ther*. 2004 Feb;42(2):125-36.
34. Buchenauer T, Behrendt P, Bode FJ, Horn R, Brabant G, et al. Diet-induced obesity alters behavior as well as serum levels of corticosterone in F344 rats. *Physiol Behav* 2009; 98: 563–569.
35. Buck SM, Hillman CH, Castelli DM. The relation of aerobic fitness to stroop task performance in preadolescent children. *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Jan;40(1):166-72.
36. Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)*. 2007 Apr;15(4):798-808.
37. Burrows R, Díaz E, Sciaraffia V, Gattas V, Montoya A, Lera L. Hábitos de ingesta y actividad física em escolares, según tipo de establecimiento al que asisten. *Rev Med Chile* 2008; 136: 53-63.

38. Burghardt PR, Pasumarthi RK, Wilson MA, Fadel J. Alteration in fear conditioning and amygdalar activation following chronic wheel running in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006 Jun;84(2):306-12. Epub 2006 Jul 5.
39. Burghardt PR, Fulk LJ, Hand GA, Wilson MA. The effects of chronic treadmill and wheel running on behavior in rats. *Brain Res* 2004;1019(1-2):84-96.
40. Burke NL, Storch EA. A meta-analysis of overweight status and anxiety in children and adolescents. *J Dev Behav Pediatr* 2015;36(3): 133-145
41. Caimari A, Oliver P, Rodenburg W, Keijer J, Palou A (2010) Slc27a2 expression in peripheral blood mononuclear cells as a molecular marker for overweight development. *Int J Obes* 34: 831–839.
42. Cairney J, Corna LM, Veldhuizen S, Kurdyak P, Streiner DL. The social epidemiology of affective and anxiety disorders in later life in Canada. *Can J Psychiatry* 2008; 53: 104–111.
43. Calfas KJ, Taylor WC. Effects of physical activity on psychological variables in adolescents. *Pediat Exer Sci* 1994;6:406–23.
44. Carl JL. The effect of aerobic exercise and group counseling on the reduction of anxiety in special education students. *Dissertation Abstracts International* 1984;44(7-A):Jan–A.
45. Castro I, Waclawovsky G, Marcadenti A. Nutrition and physical activity on hypertension: implication of current evidence and guidelines. *Curr Hypertens Rev.* 2015;11(2):91-9.
46. Castro-Piñero J, González-Montesinos JL, Keating XD, Mora J, Sjöström M, Ruiz, J. R. Percentile values for running sprint field tests in children ages 6- 17 years: Influence of weight status. *Research Quarterly for Exercise and Sport.* 2010a; 81, 143-151.
47. Castro-Piñero J, Artero EG, España-Romero V, Ortega FB, Sjöström M, Ruiz JR. Criterion-related validity of field-based fitness test in young: a systematic review. *Br J Sport Med* 2010b;44(13):934-943.
48. Castro-Piñero, J., González-Montesinos, J. L., Mora, J., Keating, X. D., Girela-Rejón, M. J., Sjöström, M., y Ruiz, J. R. Percentile values for muscular strength field tests in children aged 6 to 17 years: Influence of weight status. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2009: 23, 2295-2310.
49. Chaddock L, Pontifex MB, Hillman CH, Kramer AF. A review of the relation of aerobic fitness and physical activity to brain structure and function in children. *J Int Neuropsychol Soc* 2011 nov;17(6):975-85.

50. Chaddock L, Erickson KI, Prakash RS, et al. Basal ganglia volume is associated with aerobic fitness in preadolescent children. *Dev Neurosci*. 2010;32:249–256.
51. Charney DS, Drevets WC. The neurobiological basis of anxiety disorders. In: *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress*; Davis KL, Charney D, Coyle JT, et al., Eds.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia 2002.
52. Chen HI, Lin LC, Yu L, Liu YF, Kuo YM, Huang AM, Chuang JI, Wu FS, Liao PC & Jen CJ (2008). Treadmill exercise enhances passive avoidance learning in rats: the role of down-regulated serotonin system in the limbic system. *Neurobiol Learn Mem* 2008: 89; 489–496.
53. Cilli M, De Rosa R, Pandolfi C, Vacca K, Cugini P, Ceni ZBS. Quantification of sub-clinical anxiety and depression in essentially obese patients and normal-weight health subjects. *Eat Weight Disord* 2003;8:319–20.
54. Coelho-E-Silva MJ, Vaz Ronque ER, Cyrino ES, Fernandes RA, Valente-Dos-Santos J, Machado-Rodrigues A, Martins R, Figueiredo AJ, Santos R, Malina RM. Nutritional status, biological maturation and cardiorespiratory fitness in Azorean youth aged 11-15 years. *BMC Public Health* 2013; 13: 495.
55. Cooney GM, Dwan K, Greig CA, Lawlor DA, Rimer J, Waugh FR, McMurdo M, Mead GE. Exercise for depression. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Sep 12;(9):CD004366.
56. Costa MS, Ardais AP, Fioreze GT, Mioranza S, Botton PH, Portela LV, et al. Treadmill running frequency on anxiety and hippocampal adenosine receptors density in adult and middle-aged rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012 Jan 10;36(1):198-204.
57. Cotman CW, Berchtold NC. Physical activity and the maintenance of cognition: Learning from animal models. *Alzheimers Dement*. 2007 Apr;3(2 Suppl):S30-7.
58. Crawford MJ, McGuire H, Moncrieff J, Martinsen EW. Exercise therapy for depression and other neurotic disorders. *The Cochrane Library* 2002, Issue 4.
59. Dalla, C. & Shors, T. J. Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning. *Physiol Behav* 2009: 97, 229–238.
60. Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun* 2005; 19:275-280.
61. Davis CL, Tomporowski PD, McDowell JE, Austin BP, Miller PH, Yanasak NE, et al. Exercise Improves Executive Function and Achievement and Alters Brain Activation in Overweight Children: A Randomized Controlled Trial. *Health Psychol*. 2011 Jan; 30(1): 91–98.
62. Del Barrio V, Roa ML, Olmedo M, Colodrón F. First adaption of the CDI-S for Spanish population. *Acción Psicológica* 2002.2;263-272.

63. de Macedo IC, de Freitas JS, da Silva Torres IL. The Influence of Palatable Diets in Reward System Activation: A Mini Review. *Adv Pharmacol Sci.* 2016;2016:7238679.
64. Derogatis LR. SCL-90-R administration, scoring and procedures manual-II. *Clinical Psychometric Research: Towson* 1983.
65. de Artiñano A, Castro MM. Experimental rat models to study the metabolic syndrome. *Br J Nutr.* 2009 Nov;102(9):1246-53.
66. de Bourdeaudhuij I, Maes L, De Henauw S, De Vriendt T, Moreno LA, Haerens L. Evaluation of a computer-tailored physical activity intervention in adolescents in six European countries: the Activ-O-Meter in the HELENA intervention study. *Journal of Adolescent Health,* 2010; 46 (5): 458-466.
67. de Macedo IC, de Freitas JS, da Silva Torres IL. The Influence of Palatable Diets in Reward System Activation: A Mini Review. *Adv Pharmacol Sci.* 2016;2016:7238679.
68. de Oliveira MR, Silvestrin RB, Mello E, Souza T, Moreira JC. Oxidative stress in the hippocampus, anxiety-like behavior and decreased locomotory and exploratory activity of adult rats: effects of sub acute vitamin A supplementation at therapeutic doses. *Neurotoxicology* 2007;6:1191–9.
69. Diaz LR, Siontas D, Mendoza J, Arvanitogiannis A. High levels of wheel running protect against behavioral sensitization to cocaine. *Behav Brain Res.* 2013 Jan 15;237:82-5.
70. Dickerson FB, Brown CH, Daumit GL, Fang L, Goldberg RW, Wohlheiter K, et al. Health status of individuals with serious mental illness. *Schizophr Bull* 2006;32(3):584–9.
71. Dishman RK, Berthoud HR, Booth FW, Cotman CW, Edgerton VR, Fleshner MR, et al. Neurobiology of exercise. *Obesity (Silver Spring).* 2006 Mar;14(3):345-56.
72. Daviu, N., Andero, R., Armario, A. & Nadal, R. Sex differences in the behavioural and hypothalamic–pituitary–adrenal response to contextual fear conditioning in rats. *Horm Behav* 2014: 66, 713–723.
73. Dunn AL, Dishman RK. Exercise and the neurobiology of depression. *Exerc Sport Sci Rev* 1991;19:41-98.
74. Ehlers, A. A one-year prospective study of panic attacks: clinical course and factors associated with maintenance. *Journal of Abnormal Psychology.* 1995; 104, 164–172.
75. Ekeland E, Heian F, Hagen KB, Abbott J, Nordheim L. Exercise to improve self-esteem in children and young people. *The Cochrane Library* 2004, Issue 1.

76. El Elj N, Lac G, Alya B, Lasram M, Zaouali M, Tabka Z, et al. Additive effect of diets and training on total insulin-like growth factor-1 (IGF-1) in rats. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2010; 71:297–302.
77. Epel E, et al. Stress may add bite to appetite in women: a laboratory study of stress-induced cortisol and eating behavior. *Psychoneuroendocrinol* 2001;26:37–49.
78. Epstein LH, Valoski A, Wing RR, McCurley J. Ten-year outcomes of behavioral family-based treatment for childhood obesity. *Health Psychol*. 1994;13:373–383.
79. Eresmis S, Cetin N, Amar M, Bukusoglu N, Akdeniz F, Goksen D. Is obesity a risk for psychopathology among adolescents? *Pediatr Int* 2004;46:296-301.
80. Escorihuela RM, Tobeña A, Driscoll P, Fernández-Teruel A. Effects of training, early handling, and perinatal flumazenil on shuttle box acquisition in Roman low-avoidance rats: Toward overcoming a genetic deficit. *Neurosci Biobehav Rev*. 1995 Fall;19(3):353-67.
81. Escorihuela RM, Fernández-Teruel, A, Núñez JF, Zapata A & Tobeña A. Beneficial effects of infantile stimulation on coping (avoidance) behaviour in rats are prevented by perinatal blockade of benzodiazepine receptors with Ro 15-1788. *Neurosci Lett* 1991;126, 45–48.
82. Eyres SL, Turner AI, Nowson CA, Torres SJ. Does diet-induced weight change effect anxiety in overweight and obese adults? *Nutrition* 2014; 30:10-15.
83. Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Vander HS, Murray CJ. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet* 2002, 360:1347–1360.
84. Fedewa MV, Gist NH, Evans EM, Dishman RK. Exercise and insulin resistance in youth: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2014 Jan;133(1):e163-74.
85. Fedewa AL, Ahn S. The effects of physical activity and physical fitness on children's achievement and cognitive outcomes: a meta-analysis. *RQES* 2011;82: 521-535.
86. Fernández-Teruel A, Escorihuela RM, Gray JA, Aguilar R, Gil L, Giménez-Llort L, et al. A quantitative trait locus influencing anxiety in the laboratory rat. *Genome Res*. 2002; 12:618–626.
87. Finch LE, Tomiyama AJ. Comfort eating, psychological stress, and depressive symptoms in young adult women. *Appetite*. 2015; 95:239-244.
88. Fisher A, Boyle JM, Paton JY, Tomporowski P, Watson C, McColl JH, et al. Effects of a physical education intervention on cognitive function in young children: randomized controlled pilot study. *BMC Pediatr* 2011;11:97.
89. Flynn MA, McNeil DA, Maloff B, Mutasingwa D, Wu M, Ford C, Tough SC. Reducing obesity and related chronic disease risk in children and youth: a

- synthesis of evidence with 'best practice' recommendations. *Obes Rev.* 2006 Feb;7 Suppl 1:7-66.
90. Fone KC, Porkess MV. Behavioral and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevant to developmental neuropsychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008 Aug;32(6):1087-102.
  91. Fox CK, Gross AC, Rudser KD, Foy A, Kelly A. Depression, anxiety, and severity of obesity in adolescents: Is Emotional eating the link?. *Clinical Pediatrics* 2015. 1-6.
  92. Fulk LJ, Stock HS, Lynn A, Marshall J, Wilson MA, Hand GA. Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. *Int J Sports Med.* 2004 Jan;25(1):78-82.
  93. Galv3z A, Rodr3guez P, Guillam3n A, Garc3a-Cant3 E, P3rez-Soto J, Tarraga L, et al. Relaci3n entre estatus de peso corporal y el autoconcepto en escolares. *Nutr Hosp.* 2015;31(2):730-736.
  94. Ganley RM. Emotion and eating in obesity: a review of the literature. *Int J Eat Disord.* 1989;8:343-361.
  95. Garc3a-Capdevila S, Portell-Cort3s I, Torras-Garcia M, Coll- Andreu M, Costa-Miserachs D. Effects of long-term voluntary exercise on learning and memory processes: dependency of the task and level of exercise. *Behav Brain Res* 2009; 202(2):162-70.
  96. Garg N, Wansink B, Inman J. The influence of incidental affect on consumers' food intake. *J Marketing* 2007;71:194–206.
  97. Gari3py G, Nitka D, Schmitz N. The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes (Lond)* 2010, 34:407–419
  98. Gelieber A, Aversa A. Emotional eating in overweight, normal weight, and underweight individuals. *Eat Behav.* 2003 Jan;3(4):341-7.
  99. Ginsburg GS, Silverman WK. Gender role orientation and fearfulness in children with anxiety disorders. *J Anxiety Disord.* 2000. 14:57–67.
  100. Gligoroska JP, Manchevska S. The effect of physical activity on cognition - physiological mechanisms. *Mater Sociomed* 2012;24(3):198-202.
  101. Godard CM, Rodriguez M, D3az N, Lera L, Salazar G, Burrow R. Valor de un test cl3nico para evaluar actividad f3sica en ni3os. *Rev Med Chile* 2008; 136: 1155-62.

102. Goodman E, Whitaker RC. A prospective study of the role of depression in the development and persistence of adolescent obesity. *Pediatrics*. 2002;110:497–504.
103. Godoy A, Gavino A, Carrillo F, Cobos MP, Quintero C. Composición factorial de la versión española de la Spence Children Anxiety Scale (SCAS). *Psicothema* 2011. Vol 23; (2):289-94.
104. Goldschmidt AB, Aspen VP, Sinton MM, Tanofsky-Kraff M, Eilfley DE. Disordered eating attitudes and behaviors in overweight youth. *Obesity* 2008;16:257–264.
105. Gomez-Pinilla F1, Hillman C. The influence of exercise on cognitive abilities. *Compr Physiol*. 2013 Jan;3(1):403-28.
106. Goodman E, Whitaker RC. A prospective study of the role of depression in the development and persistence of adolescent obesity. *Pediatrics*. 2002;110:497–504.
107. Goularte JF, Ferreira MB, Sanvitto GL. Effects of food pattern change and physical exercise on cafeteria diet-induced obesity in female rats. *Br J Nutr*. 2012 Oct 28;108(8):1511-8.
108. Greenwood BN, Spence KG, Crevling DN, Clark PJ, Craig WC, Flesher M. Exercise-induced stress resistance is independent of exercise controllability and the medial prefrontal cortex. *Eur J Neurosci*. 2013 February; 37(3): 469–478.
109. Grippo AJ, Lamb DG, Carter CS, Porges SW. Social isolation disrupts autonomic regulation of the heart and influences negative affective behaviors. *Biol Psychiatry*. 2007 Nov 15;62(10):1162-70. Epub 2007 Jul 20.
110. Guinhouya BC. Physical activity in preventing metabolic syndrome in children. *Med Sci (Paris)*. 2009 Oct;25(10):827-33.
111. Gunstad J, Spitznagel MB, Paul RH, Cohen RA, Kohn M, Luyster FS, et al. Body mass index and neuropsychological function in healthy children and adolescents. *Appetite*. 2008;50:246–251
112. Hankin BL, Abramson LY. Development of gender differences in depression: An elaborated Cognitive vulnerability-transactional stress theory. *Psychological Bulletin*. 2001;6:773-796.
113. Hansalik M, Skalicky M, Viidik A. Impairment of water maze behaviour with ageing is counteracted by maze learning earlier in life but not by physical exercise, food restriction or housing conditions. *Exp. Gerontol* 2006;41: 169—174.
114. Hariri N, Thibault L. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutr Res Rev*. 2010 Dec;23(2):270-99.

115. Hermes G, Li N, Duman C, Duman R. Post-weaning chronic social isolation produces profound behavioral dysregulation with decreases in prefrontal cortex synaptic-associated protein expression in female rats. *Physiol Behav.* 2011 Aug 3;104(2):354-9.
116. Herring MP, O'Conner JP, Dishman RK. The effect of exercise training on anxiety symptoms among patients. *Arch Intern Med* 2010; 170(4): 321-31.
117. Heyne A, Kiesselbach C, Sahún I, McDonald J, Gaiffi M, Dierssen M, Wolffgramm J. An animal model of compulsive food-taking behaviour. *Addict Biol* 2009; 14:373-383.
118. Higa TS, Spinola AV, Fonseca-Alaniz MH, Evangelista FS. Remodeling of white adipose tissue metabolism by physical training prevents insulin resistance. *Life Sci.* 2014; 103:41–48.
119. Hillman ch. An introduction to the relation of physical activity to cognitive and brain health, and scholastic achievement. *Monogr soc res child dev.* 2014 dec;79(4):1-6.
120. Hillman CH, Kamijo K, Scudder M. A review of chronic and acute physical activity participation on neuroelectric measures of brain health and cognition during childhood. *Prev Med* 2011;52: S21-28.
121. Hillman CH, Buck SM, Themanson JR, Pontifex MB, Castelli DM. Aerobic fitness and cognitive development: Event-related brain potential and task performance indices of executive control in preadolescent children. *Dev Psychol.* 2009 Jan;45(1):114-29.
122. Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF. Be smart, exercise your hear t: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci* 2008;9(1):58-65.
123. Hilyer JC, Wilson DG. Physical fitness training and counselling as treatment for youthful offenders. *Journal of Counseling Psychology* 1982;29(3):292–303.
124. Hopkins, M.E., Bucci, D.J. BDNF expression in perirhinal cortex is associated with exercise-induced improvement in object recognition memory. *Neurobiol. Learn. Mem* 2010; 94, 278—284.
125. Houghton F, Cowley H, Houghton S, Kelleher K. The Children's Depression inventory short form (CDI-S) in an Irish context. *Irish J Psychol* 2003;24(3-4):193-198.
126. Hovland A, Nordhus IH, Sjøbø T, et al. Comparing physical exercise in groups to group cognitive behaviour therapy for the treatment of panic disorder in a randomized controlled trial. *Behav Cogn Psychother.* 2013 Jul;41(4):408-32.

127. Howley ET, Bassett DR, Jr., Welch HG. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27(9):1292-301.
128. Huang AM, Jen CJ, Chen HF, Yu L, Kuo YM & Chen HI. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *J Neural Transm* 2006;113, 803–811.
129. Hung YH, Linden MA, Gordon A, Rector RS, Buhman KK. Endurance exercise training programs intestinal lipid metabolism in a rat model of obesity and type 2 diabetes. *Physiol Rep*. 2015; 3. pii: e12232.
130. Hyde JS, Mezulis AH, Abramson LY. The ABCs of depression: integrating affective, biological, and cognitive models to explain the emergence of the gender difference in depression. *Psychol Rev*. 2008 Apr;115(2):291-313.
131. Informe de Resultados Estudio Nacional Educación Física 2015. Agencia de Calidad de la Educación, Santiago, Chile 2016.
132. Jacobs, Bradford E. The effects of physical fitness training on anxiety [Dissertation]. Hofstra University, 1984:101.
133. Janssen I, Leblanc A. Systematic Review of the Health Benefits of Physical Activity in School-Aged Children and Youth. *Int J Behav Nutr Phys Act* 2010 May 11;7:40.
134. Janssen I. Physical activity guidelines for children and youth. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 2007, 32:S109–S121.
135. Janssen I, Katzmarzyk PT, Boyce WF, Vereecken C, Mulvihill C, Roberts, C., et al. Comparison of overweight and obesity prevalence in school-aged youth from 34 countries and their relationships with physical activity and dietary patterns. *Obes Rev*, May 2005; 6(2):123–132.
136. Janz KF, Burns TL, Levy SM. Tracking of activity and sedentary behaviors in childhood: the Iowa Bone Development Study. *Am J Prev Med*. 2005;29:171-8.
137. John U, Meyer C, Rumpf H, Hapke U. Relationships of psychiatric disorders with overweight and obesity in an adult general population. *Obes Res* 2005;13:101–9.
138. Johnston E, Johnston S, McLeod P, Johnston M. The relation of body mass index to depressive symptoms. *Can J Public Health* 2004;95:179–83.
139. Jorm A, Korten A, Christensen H, Jacomb P, Ridgers B, Parslow R. Association of obesity with anxiety, depression, and emotional well-being: a community survey. *Aust N Z J Public Health* 2003;27:434–40.
140. Joshi P, Bryan C, Howat H. Relationship of body mass index and fitness levels among schoolchildren. *J Strength Cond Res* 2012; 26 (4): 1006-14.

141. Kamijo K, Khan NA, Pontifex MB, Scudder MR, Drollette ES, Raine LB, et al. The relation of adiposity to cognitive control and scholastic achievement in preadolescent children. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:2406–2411.
142. Kandiah J, Yake M, Jones J, Meyer M. Stress influences appetite and comfort food preferences in college women. *Nutr Res* 2006;26:118–23.
143. Kari HP, Davidson PP, Kohl HH, et al. Effects of ketamine on brain monoamine levels in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1978; 20(3): 475-88.
144. Karlsson J, Taft C, Ryden A, Sjöström L, Sullivan M. Ten-year trends in health-related quality of life after surgical and conventional treatment for severe obesity: the SOS intervention study. *Int J Obes* 2007;31:1248–61.
145. Kempermann G, Fabel K, Ehninger D, Babu H, Leal-Galicia P, Garthe A, et al. Why and how physical activity promotes experience-induced brain plasticity. *Front Neurosci* 2010; 4:189.
146. Kennedy AJ, Ellacott KL, King VL, Hasty AH. Mouse models of the metabolic syndrome. *Dis Model Mech* 2010; 3: 156-166.
147. Kim YP, Kim H, Shin MS, Chang HK, Jang MH, Shin MC, Lee SJ, Lee HH, Yoon JH, Jeong IG, Kim CJ. Age-dependence of the effect of treadmill exercise on cell proliferation in the dentate gyrus of rats. *Neurosci Lett* 2004;355:152–154.
148. Kleim JA, Cooper NR, VandenBerg PM. Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex. *Brain Res* 2002;26;934(1):1-6.
149. Knapen J, Vancampfort D, Moriën Y, Marchal Y. Exercise therapy improves both mental and physical health in patients with major depression. *Disabil Rehabil.* 2015;37(16):1490-5.
150. Kokras, N. & Dalla, C. Sex differences in animal models of psychiatric disorders. *Br. J. Pharmacol.* 2014; 171, 4505–4619.
151. Kovack M. Children's depression inventory CDI manual. New York: Multi-Health Systems; 1992.
152. Lanza JF, Caimari A, del Bas JM, Torregrosa D, Cigarroa I, Pallàs M, et al. Effects of a post-weaning cafeteria diet in young rats: metabolic syndrome, reduced activity and low anxiety-like behaviour. *PLoS One* 2014; 9:e85049.
153. Lanza JF, Sanchez-Roige S, Gagliano H, Fuentes S, Bayod S, Camins A, et al. Physiological and behavioral consequences of long-term moderate treadmill exercise. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37: 1745–1754.

154. Lambert EV, Bull F. Public health recommendations for physical activity in the prevention of type 2 diabetes mellitus. *Med Sport Sci.* 2014;60:130-40.
155. Larun L, Nordheim L, Ekeland E, Hagen K, Heian F. Exercise in prevention and treatment of anxiety and depression among children and young people. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;3:CD004691.
156. Lau PWC, Yu CW, Lee A, Sung RYT. The physiological and psychological effects of resistance training on Chinese obese adolescents. *Journal of Exercise Science and Fitness* 2004;2(2):115–120.
157. Laukkanen JA, Lakka TA, Rauramaa R, Kuhanen R, Venalainen JM, Salonen R, et al. Cardiovascular fitness as a predictor of mortality in men. *Arch Intern Med* 2001; 161(6): 825-31.
158. Leasure JL, Jones M. Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. *Neuroscience* 2008; 15;156(3):456-65.
159. Lee SH, Paz-Filho G, Mastronardi C, Licinio J, Wong ML. Is increased antidepressant exposure a contributory factor to the obesity pandemic? *Transl Psychiatry* 2016; 6, e759.
160. Lee C, Hopkins J. Effect of Aerobic Exercise on Cognition, Academic Achievement, and Psychosocial Function in Children: A Systematic Review of Randomized Control Trials. *Prev Chronic Dis.* 2013 Oct 24;10:E174.
161. Li AM, Yin J, Yu CC, et al. The six-minute walk test in healthy children: reliability and validity. *Eur Respir J.* 2005;25:1057-1060.
162. Liu YF, Chen H, Wu CL, Kuo YM, Yu L, Huang AM, et al. Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. *J Physiol* 2009;587(Pt 13):3221-31.
163. Liu YF, Chen HI, Yu L, Kuo YM, Wu FS, Chuang JI, Liao PC, Jen CJ. Upregulation of hippocampal TrkB and synaptotagmin is involved in treadmill exercise-enhanced aversive memory in mice. *Neurobiol Learn Mem* 2008; 90:81–89.
164. Long BC, van Stavel R. Effects of exercise training on anxiety: A meta-analysis *J Appl Sport Psychol* 1995; 7(2): 167-89.
165. López-Aumatell, R. et al. Effects of environmental and physiological covariates on sex differences in unconditioned and conditioned anxiety and fear in a large sample of genetically heterogeneous (N/Nih-HS) rats. *Behav Brain Funct* 2011;7, 48.
166. Lopresti AL., Drummond PD. Obesity and psychiatric disorders: commonalities in dysregulated biological pathways and their implications for

- treatment. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013(b) Aug 1;(45):92-99.
167. Lozano I, Van der Werf R, Bietiger W, Seyfritz E, Peronet C. High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutr Metab (Lond)*.2016 Feb 25;13:15.
168. MacQueen H, Sadler DA, Moore SA, Daya S, Brown JY, Shuker D, et al. Deleterious effects of a cafeteria diet on the livers of nonobese rats. *Nutrition Research* 27 (2007) 38 – 47.
169. Maniam J, Morris MJ. Palatable cafeteria diet ameliorates anxiety and depression-like symptoms following an adverse early environment. *Psychoneuroendocrinology*. 2010; 35:717–728.
170. Marti O, Marti J, Armario A. Effects of chronic stress on food intake in rats: influence of stressor intensity and duration of daily exposure. *Physiol Behav* 1994;55:747–53.
171. Martín-Albo J, Nuñez JL, Navarro JG, Grijalvo F. The Rosenberg Self-esteem scale: Translation and validation in university students. *Span J Psychol*. 2007.vol 10(2);458-467.
172. Martinsen EW. Physical Activity and mental health. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2000 Oct 20;120(25):3054-6.
173. Martire SI, Holmes N, Westbrook RF, Morris MJ. Altered feeding patterns in rats exposed to a palatable cafeteria diet: increased snacking and its implications for development of obesity. *PLoS One* 2013. 8:e60407.
174. Masood A, Nadeem A, Mustafa SJ, O'Donnell JM. Reversal of oxidative stress-induced anxiety by inhibition of phosphodiesterase-2 in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2008;2:369–79.
175. McElroy SL, Kotwal R, Malhotra S, Nelson EB, Keck PE, Nemeroff CB. Are mood disorders and obesity related? A review for the mental health professional. *J Clin Psychiatry*. 2004;65:634-651.
176. McIntyre RS, Konarski JZ, Wilkins K, Soczynska JK, Kennedy SH. Obesity in bipolar disorder and major depressive disorder: results from a national community health survey on mental health and well-being. *Can J Psychiatry*. 2006 Apr;51(5):274-80.
177. McMorris T, Collard K, Corbett J, Dicks M, Swain JP. A test of the catecholamines hypothesis for an acute exercise cognition interaction. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 89(1):106-15.

178. McNair D, Lorr M, Droppleman L. Profile of Mood States (POMS) manual (rev). Educational and Industrial Testing Service: San Diego 1992.
179. Meekums B, Vaverniece I, Majore-Dusele I, Rasnacs O. Dance movement therapy for obese women with comfort eating: a controlled pilot study. *The Arts in Psychotherapy*. 2012; 39(2), 126-133.
180. Melo MC, Daher Ede F, Albuquerque SG, de Bruin VM. Exercise in bipolar patients: A systematic review. *J Affect Disord*. 2016 Jul 1;198:32-8.
181. Mellbin T, Vuille JC. Rapidly developing overweight in school children as an indicator of psychosocial stress. *Acta Paediatr Scand* 1989;78:568 –75.
182. Merom D, Phongsavan P, Wagner R, et al. Promoting walking as an adjunct intervention to group cognitive behavioural therapy for anxiety disorders – a pilot group randomized trial. *J Anxiety Disord* 2008;22:959–968.
183. Michaud C, Kahn JP, Musse N, Burlet C, Nicolas JP, Mejean L. Relationships between a critical life event and eating behaviour in high-school students. *Stress Med* 1990;6:57– 64.
184. Ministerio de Salud de Chile. Encuesta de consumo alimentario en Chile. ENCA. Encuesta Nacional de consumo alimentario informe final. Santiago, Chile. 2014. [Disponible en: [http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA-INFORME\\_FINAL.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/ENCA-INFORME_FINAL.pdf)] [Consulta: 22 de marzo 2015].
185. Ministerio de Salud de Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile, Universidad Alberto Hurtado. Encuesta Nacional de Salud 2009-2010. Santiago, Chile. [Disponible: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>] [Consulta: 22 de enero del 2015].
186. Ministerio de Salud de Chile. Diagnóstico del estado nutricional de menores de 6 años, gestantes, nodrizas y adultos mayores, bajo control en el sistema público de salud. Santiago, Chile. 2013. [Disponible en: [http://web.minsal.cl/sites/default/files/DIAGNOSTICO\\_ESTADO\\_NUTRICIONAL\\_DICIEMBRE\\_2013.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/DIAGNOSTICO_ESTADO_NUTRICIONAL_DICIEMBRE_2013.pdf)] [Consulta: 02 de febrero del 2016].
187. Ministerio de Salud Chile. Normas técnicas para la supervisión de niños y niñas de 0 a 9 años en la atención primaria de salud. Programa nacional de salud de la infancia. 2014. Santiago, Chile. [Disponible en: <http://web.minsal.cl/salud-infantil/>] [Acceso: 02 de febrero del 2016].
188. Ministerio de Salud de Chile. Programa vida sana prevención de ENTs- Atención primaria: Orientaciones y lineamientos programa vida sana. 2015. Santiago, Chile. [Disponible en: [http://www.gob.cl/cuenta-publica/2015/sectorial/2015\\_sectorial\\_ministerio-salud.pdf](http://www.gob.cl/cuenta-publica/2015/sectorial/2015_sectorial_ministerio-salud.pdf)] [Consulta: 02 de febrero 2016].

189. Moliner-Urdiales D, Ruiz JR, Vicente-Rodríguez G, Ortega FB, Rey-López JP, Espana-Romero V, et al. Associations of muscular and cardiorespiratory fitness with total and central body fat in adolescents; The HELENA Study. *Brit J Sports Med.* 2011;45:101-8.
190. Monsalves-Alvarez M, Castro-Sepúlveda M, Zapata-Lamana R, Rosales-Soto G, Salazar Rodriguez G. Motor skills and nutritional status outcomes from a physical activity intervention in short breaks on preschool children conducted by their educators: a pilot study. *Nutr Hosp.* 2015;32(4):1576-1581.
191. Moreno JA, Cevelló E. Physical self-perception in Spanish adolescents: effects of gender and involvement in physical activity. *J Hum Mov Stud* 2005;48:291-311.
192. Morgan WP. Affective beneficence of vigorous physical activity. *Med Sci Sports Exerc* 1985;17:94-100.
193. Morris M, Steinberg H, Sykes EA, Salmon P. Effects of temporary withdrawal from regular running. *J Psychosom Res* 1990;34:493-500.
194. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet* 2016 Apr 2;387(10026):1377-96.
195. Núñez JF. et al. Postnatal handling reduces emotionality ratings and accelerates two-way active avoidance in female rats. *Physiol Behav* 1995; 57, 831–835.
196. Nunez-Gaunard A, Moore J, Roach K, Miller T, Kirk-Sanchez N. Motor proficiency, strength, endurance, and physical activity among middle school children who are healthy, overweight, and obese. *Pediatr Phys Ther* 2013;25:130–138.
197. O’Callaghan RM, Griffin EW, Kelly AM. Long-term treadmill exposure protects against age-related neurodegenerative change in the rat hippocampus. *Hippocampus* 2009; 19: 1019—1029.
198. O’Callaghan RM, Ohle R, Kelly Am. The effects of forced exercise on hippocampal plasticity in the rat: A comparison of LTP, spatial- and non-spatial learning. *Behav Brain Res.* 2007 Jan 25;176(2):362-6.
199. O’Connor DB., Armitage CJ, Ferguson E. Randomized test of an implementation intention-based tool to reduce stress-related eating. *Annals of Behavioral Medicine.* 2015;49(3), 331-343.

200. Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2014. *JAMA* 2014 Feb 26;311(8), 806–814.
201. Oliver G, Wardle J. Perceived effects of stress on food choice. *Physiol Behav* 1999;66:511–5.
202. Onyike C, Crum R, Lee H, Lyketsos C, Eaton W. Is obesity associated with major depression? Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 2003;158:1139–47.
203. Organización Mundial de la Salud (OMS). Recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud OMS. 2010. [Available in: [http://whqlibdo.who.int/publications/2010/9789243599977\\_spa.pdf](http://whqlibdo.who.int/publications/2010/9789243599977_spa.pdf)] [Sought: December 12, 2015].
204. Ortega FB, Ruiz JR, Castillo MJ. Actividad física, condición física, y sobrepeso en niños y adolescentes: evidencia procedente de estudios epidemiológicos. *Endocrinol* 2013; 60(8):458-469.
205. Ortega FB, Ruiz JR, Hurtig-Wennlof A, Vicente-Rodríguez G, Rizzo NS, Castillo MJ, et al. Cardiovascular fitness modifies the associations between physical activity and abdominal adiposity in children and adolescents. The European Youth Heart Study. *Br J Sports Med*. 2010;44:256-62
206. Ortega FB, Ruiz JR, Castillo MJ, Sjöström M. Physical fitness in childhood and adolescence: a powerful marker of health. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32:1-11.
207. O'Sullivan AJ. Does oestrogen allow women to store fat more efficiently? A biological advantage for fertility and gestation. *Obes Rev*. 2009 Mar;10(2):168-77.
208. Pandit R, Mercer JG, Overduin J, la Fleur SE, Adan RA. Dietary factors affect food reward and motivation to eat. *Obes Facts*. 2012;5(2):221-42. doi: 10.1159/000338073. Epub 2012 Apr 20.
209. Pasquali R. The hypothalamic–pituitary–adrenal axis and sex hormones in chronic stress and obesity: pathophysiological and clinical aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2012; 1264(1):20–35.
210. Peluso MA, Andrade LH. Physical activity and mental health: the association between exercise and mood. *Clinics* 2005;60:61–70.
211. Pena Y, Prunell M, Rotllant D, Armario A, Escorihuela R.M. Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary—adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34: 1390—1404.

212. Pesce C, Crova C, Cereatti L, et al. Physical activity and mental performance in preadolescents: Effects of acute exercise on free-recall memory. *Ment Health Phys Act.* 2009;2:16–22.
213. Petruzzello S, Landers DM, Hatfeild BD, Kubitz KA, Salazar W. A meta-analysis on the anxiety-reducing effects of acute and chronic exercise. Outcomes and mechanisms. *Sports Med* 1991;11:143–182.
214. Petry NM, Barry D, Pietrzak RH, Wagner JA. Overweight and obesity are associated with psychiatric disorders: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Psychosom Med* 2008;70(3):288–97.
215. Pietrelli A, Lopez-Costa J, Goñi R, Brusco A, Basso, N. Aerobic exercise prevents age-dependent cognitive decline and reduces anxiety-related behaviors in middle-aged and old rats. *Neuroscience* 2012; 202:252–266.
216. Pine DS, Goldstein RB, Wolk S, Weissman MM. The association between childhood depression and adulthood body mass index. *Pediatrics* 2001; 107: 1049–1056.
217. Popper R, Smits G, Meiselman HL, Hirsch E. Eating in combat: a survey of U.S. Marines. *Mil Med* 1989;154:619 –23.
218. Puhl RM, Heuer CA. The stigma of obesity: a review and update. *Obesity* 2009; 17: 941–964.
219. Rolls BJ, Rowe EA, Turner RC. Persistent obesity in rats following a period of consumption of a mixed, high energy diet. *J Physiol (Lond)* 1980;298: 415–427.
220. Rosa EF, Takahashi S, Aboulafia J, Nouailhetas VL, Oliveira MG. Oxidative stress induced by intense and exhaustive exercise impairs murine cognitive function. *J Neurophysiol* 2007;98(September (3)):1820–6.
221. Rosenbaum S, Vancampfort D, Steel Z, Newby J, Ward PB, Stubbs B. Physical activity in the treatment of Post-traumatic stress disorder: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res.* 2015 Dec 15;230(2):130-6.
222. Roth DL, Holmes DS. Influence of aerobic exercise training and relaxation training on physical and psychologic health following stressful life events. *Psychosomatic Medicine* 1987; 49(4):355–365.
223. Rowland NE, Antelman SM. Stress-induced hyperphagia and obesity in rats: a possible model for understanding human obesity. *Science* 1976;191:310 –2.
224. Ruiz JR, Castro-Piñero J, España-Romero V, Artero EG, Ortega FB, Cuenca MM, Jimenez-Pavón D, Chillón D, et al. Field-based fitness assessment

- in young people: the ALPHA health-related fitness test battery for children and adolescents. *Br J Sports Med.* 2011;45:518-524.
225. Ruiz JR, Rizzo NS, Hurtig-Wennlöf A, Ortega FB, Wärnberg J, Sjöström M. Relations of total physical activity and intensity to fitness and fatness in children: the European Youth Heart Study. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:299-303.
226. Rush E, McLennan S, Obolonkin V, Vandal AC, Hamlin M, Simmons D, Graham D. Project Energize: whole-region primary school nutrition and physical activity programmed; evaluation of body size and fitness 5 years after the randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2014; 111 (2): 363-371.
227. Sabater D, Agnelli S, Arriarán S, Romero Mdel M, Fernández-López JA, Alemany M, Remesar X. Cafeteria diet induce changes in blood flow that are more related with heat dissipation than energy accretion. *PeerJ.* 2016 Aug 3;4:e2302.
228. Sagae SC, Menezes EF, Bonfleur ML, Vanzela EC, Zacharias P, et al. (2012) Early onset of obesity induces reproductive deficits in female rats. *Physiol Behav* 105: 1104–1111.
229. Salam JN, Fox JH, DeTroy EM, Guignon MH, Wohl DF, FallsWA. Voluntary exercise in C57 mice is anxiolytic across several measures of anxiety. *Behav Brain Res* 2009;197:31–40.
230. Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res.* 2010 Apr 2;208(2):545-52.
231. Sampey BP, Vanhoose AM, Winfield HM, Freemerman AJ, Muehlbauer MJ, Fueger PT, et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. *Obesity (Silver Spring).* 2011 Jun;19(6):1109–17.
232. Sanchez-Roige, S. et al. Long-term wheel running changes on sensorimotor activity and skeletal muscle in male and female mice of accelerated senescence. *Age* 2014; 36, 9697.
233. Sarason IG. The Test Anxiety Scale: Concept and research. In: *Stress and anxiety.* Spielberger CD, Sarason IG, Eds.; Hemisphere Publishing Corp.: Washington 1978.
234. Scheggi S, Secci ME, Marchese G, De Montis MG, Gambarana C. Influence of palatability on motivation to operate for caloric and non-caloric food in non food-deprived and food-deprived rats. *Neuroscience* 2013. 236:320-331.
235. Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2000;23(12):639-45.

236. Schlicht W. Does physical exercise reduce anxious emotions? A meta-analysis. *Anxiety Stress Coping* 1994; 6(4): 275-88.
237. Schoenberg MH. Physical Activity and Nutrition in Primary and Tertiary Prevention of Colorectal Can. *Visc Med.* 2016 Jun;32(3):199-204.
238. Schulz S, Laessle RG. Associations of negative affect and eating behaviour in obese women with and without binge eating disorder. *Eat Weight Disord.* 2010 Dec;15(4):e287-93.
239. Servatius, R. J., Jiao, X., Beck, K. D., Pang, K. C. H. & Minor, T. R. Rapid avoidance acquisition in Wistar-Kyoto rats. *Behav Brain Res* 2008. 192, 191–197.
240. Shafat A, Murray B, Rumsey D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite* 2009. 52:34-38.
241. Sherwin C. Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. *Anim Behav* 1998;56(1):11-27.
242. Simpson J, Kelly JP. The impact of environmental enrichment in laboratory rats — behavioural and neurochemical aspects. *Behav. Brain Res* 2011; 222:246—264.
243. Sinha R, Jastreboff AM (2013) Stress as a common risk factor for obesity and addiction. *Biological Psychiatry* 73: 827–835. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.01.032.
244. Skinner AC, Skelton JA. Prevalence and trends in obesity and severe obesity among children in the United States, 1999-2012. *JAMA Pediatr.* 2014;168:561-566.
245. Slochower J, Kaplan SP, Mann L. The effects of life stress and weight on mood and eating. *Appetite* 1981;2:115–25.
246. Smith TP. An evaluation of the psychological effects of physical exercise on children [Dissertation]. De Paul University, 1984:127 p.
247. Suzuki K., Machida K. Effectiveness of lower-level voluntary exercise in disease prevention of mature rats. 1: cardiovascular risk factor modification. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 1995: 71, 240—244.
248. South T, Holmes NH, Martire SI, Westbrook F, Morris MJ. Rats Eat a Cafeteria-Style Diet to Excess but Eat Smaller Amounts and Less Frequently when Tested with Chow. *PLoS One.* 2014; 9(4): e93506.
249. Souza CG, Moreira JD, Siqueira IR, Pereira AG, Rieger DK, Souza DO, et al. Highly palatable diet consumption increases protein oxidation in rat frontal cortex and anxiety-like behavior. *Life Sci.* 2007; 81:198–203.

250. Spangenberg E, Dahlborn K, Essen-Gustavss B, Cvek K. Effects of physical activity and group size on animal welfare in laboratory rats. *Anim. Welf.* 2009;18, 159—169.
251. Spielberger CD, Sydeman SJ. State-Trait Anxiety Inventory and State-Trait Anger Expression Inventory. In: *The use of psychological testing for treatment planning and outcome assessment.* Maruish ME, Ed. Erlbaum Associates: Hillsdale 1994; pp. 292-321.
252. Steimer T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. *Dialogues Clin Neurosci.* 2011; 13:495–506.
253. Stevens J, Murray DM, Baggett CD, Elder JP, Lohman TG, Lytle LA, et al. Objectively assessed associations between physical activity and body composition in middle-school girls: the Trial of Activity for Adolescent Girls. *Am J Epidemiol.* 2007;166:1298---305.
254. Stice E, Bearman SK. Body-Image and eating disturbances prospectively predict increases in depressive symptoms in adolescent girls: a grow curve analysis. *Developmental Psychology.* 2001; 37: 597-607.
255. Stone AA, Brownell K. The stress-eating paradox: multiple daily measurements in adult males and females. *Psychol Health* 1994;9: 425–36.
256. Stonerock GL, Hoffman BM, Smith PJ, Blumenthal JA. Exercise as Treatment for Anxiety: Systematic Review and Analysis. *Ann Behav Med.* 2015 Aug;49(4):542-56.
257. Strasser, B. Physical activity in obesity and metabolic syndrome. *Ann NY Acad Sci* 2013; 128: 141–159.
258. Stranahan AM, Khalil D, Gould E. Social isolation delays the positive effects of running on adult neurogenesis. *Nat Neurosci.* 2006 Apr;9(4):526-33. Epub 2006 Mar 12.
259. Ströhle A, Graetz B, Scheel M, et al. The acute antipanic and anxiolytic activity of aerobic exercise in patients with panic disorder and healthy control subjects. *J Psychiatr Res* 2009; 43(12): 1013-7.
260. Stunkard AJ, Faith MS, Allison KC . Depression and obesity. *Biol Psychiatry.* 2003 Aug 1; 54(3):330-7.
261. Suzuki K, Machida K. Effectiveness of lower-level voluntary exercise in disease prevention of mature rats. 1: cardiovascular risk factor modification. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol* 1995: 71, 240—244.
262. Thomas AG, Dennis A, Bandettini PA, Johansen-Berg H. The effects of aerobic activity on brain structure. *Front Psychol* 2012 Jan;3:86.

263. Thury C, de Matos CV. Prevention of childhood obesity: a review of the current guidelines and supporting evidence. *S D Med.* 2015;Spec No:18-23.
264. Tokmakidis SP, Kasambalis A, Christodoulos AD. Fitness levels of Greek primary schoolchildren in relationship to overweight and obesity. *Eur J Pediatr* 2006; 165 (12): 867- 74.
265. Torres SJ, Nowson CA. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 2007;23 (11–12):887–894.
266. Trudeau F, Shephard RJ. Physical education, school physical activity, school sports and academic performance. *Int J Behav Nutr Phys Act* 2008;5:10.
267. Twisk JW, Kemper HC, van Mechelen W. The relationship between physical fitness and physical activity during adolescence and cardiovascular disease risk factors at adult age. The Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *Int J Sports Med.* 2002;23 Suppl 1:S8-14.
268. Twisk JW, Kemper HC, van Mechelen W. Tracking of activity and fitness and the relationship with cardiovascular disease risk factors. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:1455--61
269. Valles A, Marti O, Garcia A, Armario A. Single exposure to stressors causes long-lasting, stress-dependent reduction of food intake in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;279:R1138–44.
270. van der Niet AG, Smith J, Scherder EJ, Oosterlaan J, Hartman E2, Visscher C. Associations between daily physical activity and executive functioning in primary school-aged children. *J Sci Med Sport.* 2015 Nov;18(6):673-7.
271. van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci.* 2009 May;32(5):283-90.
272. van Praag H. Neurogenesis and exercise: past and future directions. *Neuromolecular Med.* 2008; 10:128–140.
273. Vasconcellos F, Seabra A, Katzmarzyk PT, Kraemer-Aguiar LG, Bouskela E, Farinatti P. Physical activity in overweight and obese adolescents: systematic review of the effects on physical fitness components and cardiovascular risk factors. *Sports Med.* 2014 Aug;44(8):1139-52.
274. Vásquez AJ, Jiménez R, Vásquez-Morejón R. Escala de autoestima de Rosenberg: fiabilidad y validez en población clínica española. *Apunt Psicol.* 2004. 22;247-255.
275. Vera-García E, Mayoral-Cleries F, Vancampfort D, Stubbs B, Cuesta-Vargas AI. A systematic review of the benefits of physical therapy within a

- multidisciplinary care approach for people with schizophrenia: An update. *Psychiatry Res.* 2015 Oct 30;229(3):828-39.
276. Vila G, Zipper E, Dabbas M, Bertrand C, Robert JJ, Ricour C, et al. Mental disorders in obese children and adolescents. *Psychosomatic Medicine* 2004;66:387–394.
277. Vink D, Aartsen MJ, Schoevers RA. Risk factors for anxiety and depression in the elderly: a review. *J Affect Disord* 2008; 106: 29–44.
278. Voss MW, Chaddock L, Kim JS, Vanpatter M, Pontifex MB, et al. Aerobic fitness is associated with greater efficiency of the network underlying cognitive control in preadolescent children. *Neuroscience* 2011: 199:166-176.
279. Wadden TA, Steen SN, Wingate BJ, Foster GD. Psychosocial consequences of weight reduction: how much weight loss is enough? *Am J Clin Nutr* 1996;63:S461–5.
280. Wall PM, Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci Biobehav Rev.* 2001;25:275–86.
281. Wang J, Chen C, Wang RY. Influence of short- and long-term treadmill exercises on levels of ghrelin, obestatin and NPY in plasma and brain extraction of obese rats. *Endocrine.* 2008; 33:77–83.
282. Wedekind D, Broocks A, Weiss N, Engel K, Neubert K, Bandelow B. A randomized controlled trial of aerobic exercise in combination with paroxetine in the treatment of panic disorder. *World J Bio Psychiatry* 2010;11:904–913.
283. Weidner G, Kohlmann C W, Dotzauer E, Burns L R. The effects of academic stress on health behaviors in young adults. *Anxiety, Stress, and Coping.* 1996; 9, 123e133.
284. Wegner M, Helmich I, Machado S, Nardi AE, Arias-Carrion O, Budde H. Effects of exercise on anxiety and depression disorders: review of meta- analyses and neurobiological mechanisms. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2014;13(6):1002-14.
285. Wenker NK. Prevention of cardiovascular disease: highlights for the clinician of the 2013 American College of Cardiology/American Heart Association guidelines. *Clin Cardiol.* 2014 Apr;37(4):239-51.
286. Whiteside SP, Brown AM. Exploring the utility of Spence children’s anxiety scales parent-and chil-report forms in a North American sample. *J Anxiety Disord* 2008. 22; 1440-46.

287. Willner P, Benton D, Brown E, Cheeta S, Davies G, Morgan J, et al. Depression increases craving for sweet rewards in animal and human models of depression and craving. *Psychopharmacology*. 1998; 136(3), 272e283.
288. Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, et al. High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem* 2007; 87: 597-609.
289. Wittchen HU. Generalized anxiety disorder: Prevalence, burden, and cost to society. *Depress Anxiety* 2002; 16(4): 162-71.
290. Wipfli BM, Rethorst CD, Landers DM. The anxiolytic effects of exercise: a meta-analysis of randomized trials and dose-response analysis. *J Sport Ex Psych* 2008;30:392–410.
291. World Health Organization. Prevalence, severity, and unmet need for treatment of mental disorders in the World Health Organization: World Mental Health Survey. *JAMA* 2000; 291: 2581-90.
292. Xu X, Ying Z, Cai M, Xu Z, Li Y, Jiang SY, et al. Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011 May;300(5):R1115-25.
293. Yau YH1, Potenza MN. Stress and eating behaviors. *Minerva Endocrinol*. 2013 Sep;38(3):255-67.
294. Yin Z, Davis CL, Moore JB, Treiber FA. Physical activity buffers the effects of chronic stress on adiposity in youth. *Ann Behav Med*. 2005;29:29 –36.
295. Zeeni N, Daher C, Fromentin G, Tome D, Darcel N, Chaumontet C. A cafeteria diet modifies the response to chronic variable stress in rats. *Stress*. 2013; 16:211–219.
296. Zellner DA, et al. Food selection changes under stress. *Physiology & Behavior* 2006;87(4):789–793.
297. Zhang, Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-432.
298. Zhao J, Xing X, Wang M. Psychometric properties of the Spence Children's Anxiety Scale (SCAS) in Mainland Chinese children and adolescents. *J Anxiety Disord* 2012;26:728-736.
299. Zipper E, Vila G, Dabbas M, Bertrand C, Mouren-Siméoni MC, Robert JJ, Ricour C. Obesity in children and adolescents, mental disorders and familial psychopathology. *Presse Med*. 2001 Oct 20;30(30):1489-95.



---

*ANEXOS*

---

## **Anexo 1**

Abstract aceptado para presentación en el II Encuentro de investigadores Chilenos en Europa APIECHE, Madrid, España. Noviembre 2015. Sobre los Efectos cognitivos y metabólicos de dieta CAF con y sin la administración de procianididas de pepas de uva en ratas jóvenes hembras. Además, se adjuntas las principales figuras.

Algunos de estos datos también fueron presentados en un poster en el IV Scientific conference integrative neurobiology, Barcelona, España. Abril del 2014. Se presenta el poster.

**II ENCUENTRO DE INVESTIGADORES CHILENOS EN EUROPA APIECHE:**  
*Asociación de Profesionales, Investigadores y Estudiantes Chilenos en España*  
**Efectos cognitivos y metabólicos de dieta cafetería (CAF) con y sin la  
administración de procianidinas de pepas de uva (GSPE) en ratas jóvenes  
hembras.**

Cigarroa I<sup>1,2</sup>, Caimari A<sup>3</sup>, del Bas JM<sup>3</sup>, Lanza JF<sup>1,4</sup>, Capdevila LI<sup>4</sup>, Arola LI<sup>3,5</sup> Escorihuela RM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de Neurociències, Departament de Psiquiatria i Medicina Legal, Universitat Autònoma de Barcelona, Catalonia, Spain.

<sup>2</sup>Carrera de Kinesiología, sede Los Ángeles, Facultad de Salud, Universidad Santo Tomás, Chile

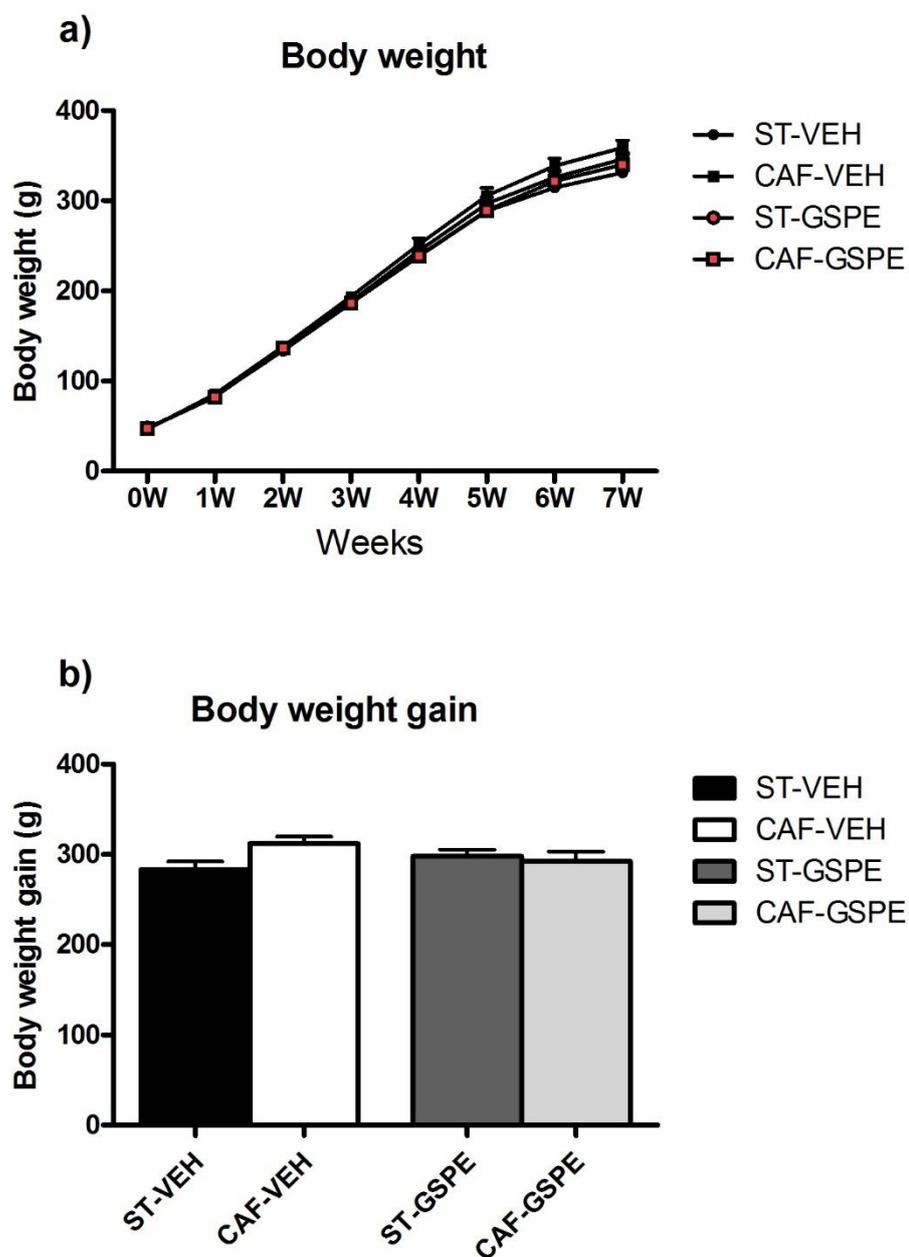
<sup>3</sup>Centre Tecnològic de Nutrició i Salut (CTNS), TECNIO, CEICS, Reus, Spain.

<sup>4</sup>Laboratori de Psicologia de l'Esport, Departament de Psicologia Bàsica, Universitat Autònoma de Barcelona, Catalonia, Spain.

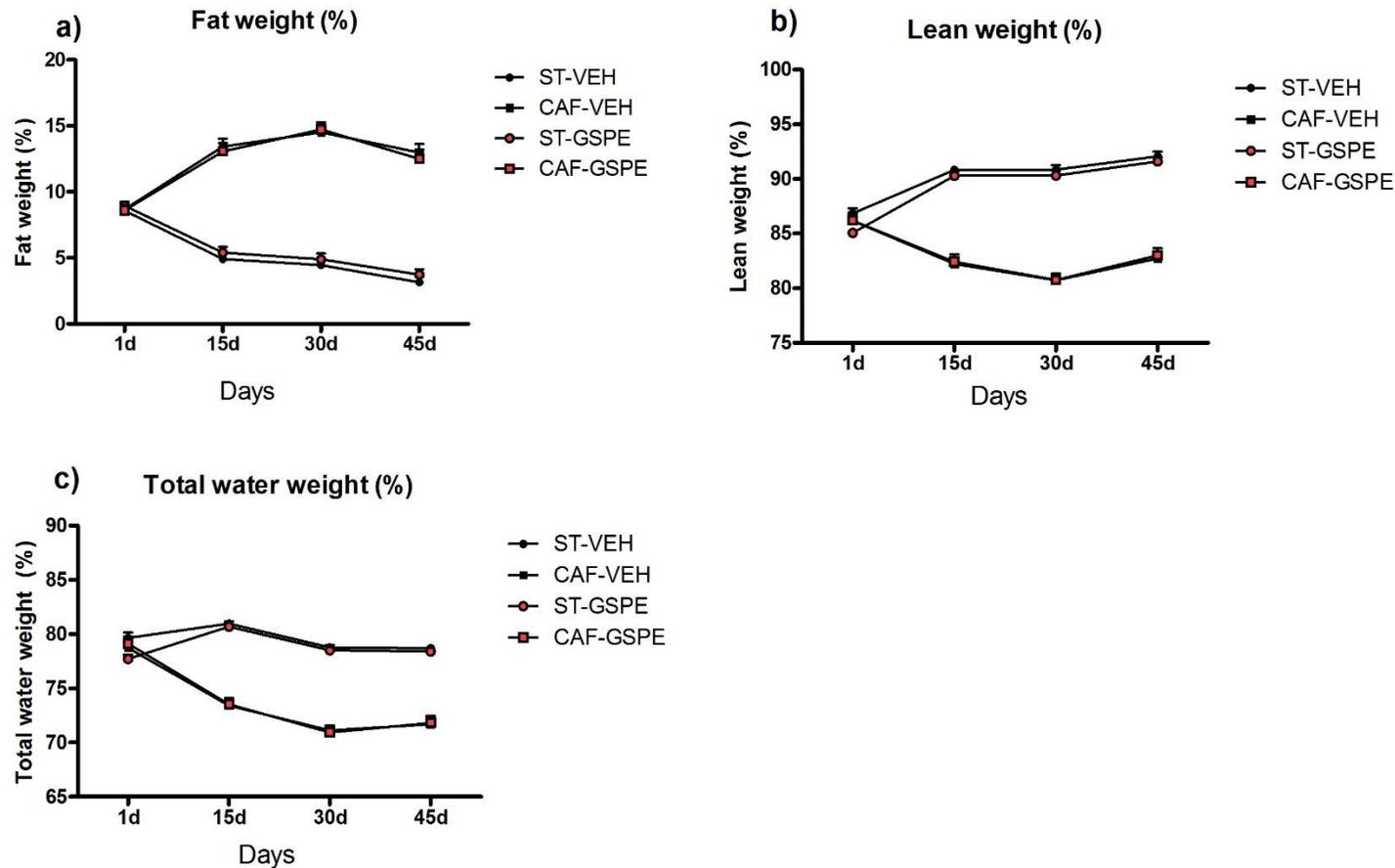
<sup>5</sup>Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Nutrigenomics Research Group, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain

**Resumen**

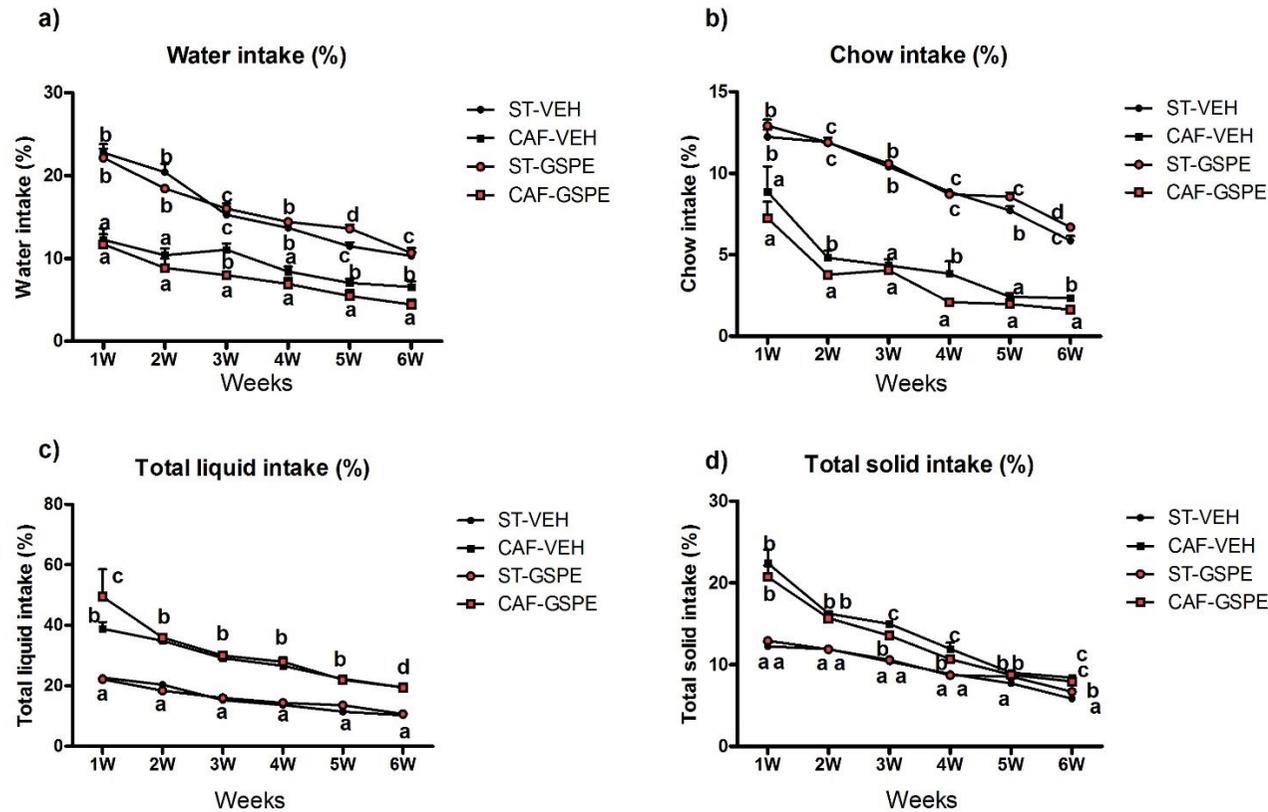
**Objetivos:** Determinar efectos cognitivos y metabólicos de dieta CAF con y sin la administración de GSPE en ratas Sprague\_Dawley hembras de 60 días de edad.  
**Metodología:** Los animales fueron alimentados con dieta estándar (ST) o dieta cafetería (CAF) y en paralelo se les administró dosis diarias de procianidinas de pepas de uva (GSPE) o vehículo (VEH) desde el destete y durante 6 semanas. Así se formaron 4 grupos; ST-GSPE, ST-VEH, CAF-GSPE CAF-VEH. **Procedimientos:** Los animales fueron evaluados en el test acuático de Morris (MWM) durante la 6ª semana de consumo de dieta y administración de GSPE o VEH. Durante el experimento, se realizaron mediciones de peso corporal y composición corporal (porcentaje de grasa y masa magra) a través de un resonador magnético. Al final del experimento, los animales se sacrificaron extrayéndose tejido hepático, cerebral, grasa blanca retroperitoneal (RWART) y mesentérica (MWAT). **Resultados:** Todos los grupos aumentaron peso al final del estudio, sin encontrar diferencias entre grupos en ganancia de peso. En composición corporal, los grupos CAF tuvieron porcentajes de grasa superiores =F (1,43) 336,155 p=0,000 y porcentajes de masa magra inferiores= F (1,43) 340,905 p=0,000 en relación a los grupos ST. El GSPE no tuvo efectos. En el consumo de alimentos, todos los animales disminuyeron consumos a lo largo del experimento. Los grupos CAF consumieron menos agua y pellets, pero más líquidos y sólidos totales que los grupos ST. En los grupos CAF, el GSPE disminuyó el consumo de agua= F(1,42) 5,179 p=0,028, pellets= F(1,42) 7,541 p=0,009 y sólidos totales= F(1,42) 5,611 p=0,023. En los pesos post-mortem, los grupo CAF tuvieron mayor peso porcentual de hígado= F(1,43) 34,393, p=0,000 y WART= F(1,43) 377,689 p=0,000 y menor peso muscular = F(1,43) 95,197 p=0,000 y peso cerebral= F(1,43) 5,033 p=0,030 que los grupos ST. El GSPE tuvo efectos en el grupo CAF, disminuyendo el peso hepático, RWART y aumentando el peso cerebral. En el MWM no se observaron efectos de la dieta o GSPE en todas las variables estudiadas. **Conclusiones:** La dieta CAF no aumenta peso corporal, pero aumenta el porcentaje de grasa y disminuye el porcentaje de masa muscular, lo que se asocia con un aumento porcentual del peso post-mortem de hígado, WART, TAM y una disminución del peso porcentual de masa muscular y masa cerebral. El GSPE es capaz de revertir el aumento porcentual de hígado y WART y la disminución de masa cerebral en pesos post-mortem en grupos CAF. **Palabras claves:** Obesidad, Ratas, Dieta Cafetería, GSPE, Memoria y aprendizaje espacial.



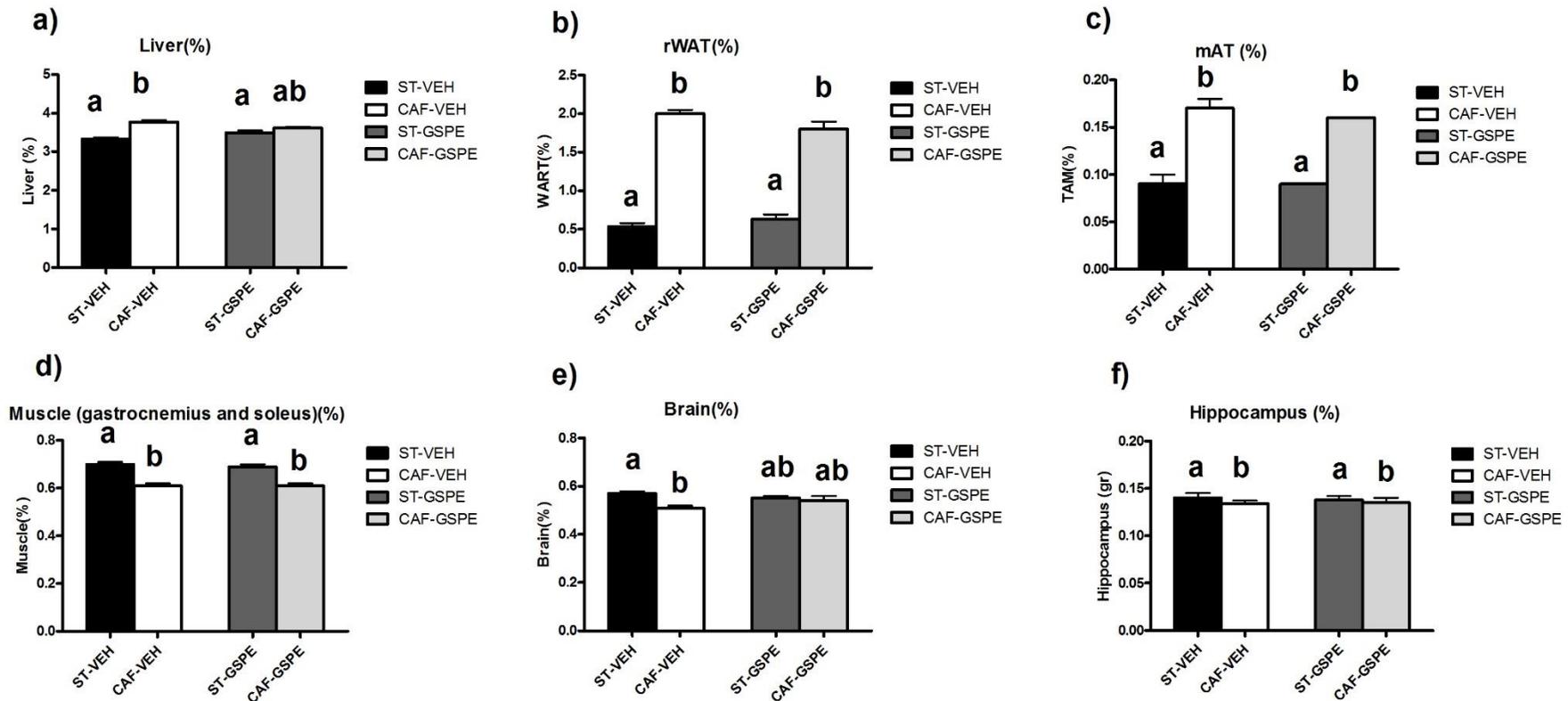
**Figura 5. Peso corporal en gramos** a) Peso corporal (g), b) ganancia de peso corporal (g) durante las 7 semanas que duró el experimento en ratas hembras alimentadas con dieta cafetería (CAF) o estándar (ST). Las ratas fueron alimentadas con dieta CAF o ST desde el destete (día 21 de vida) y con y sin la administración de procianidinas de pepas de uva (GSPE). Los datos fueron presentados en medias  $\pm$  error estándar de la media (n=11-12). ST: dieta estándar, CAF: dieta cafetería, VEH: administración de vehículo, GSPE: administración de procianidida de pepa de uva.



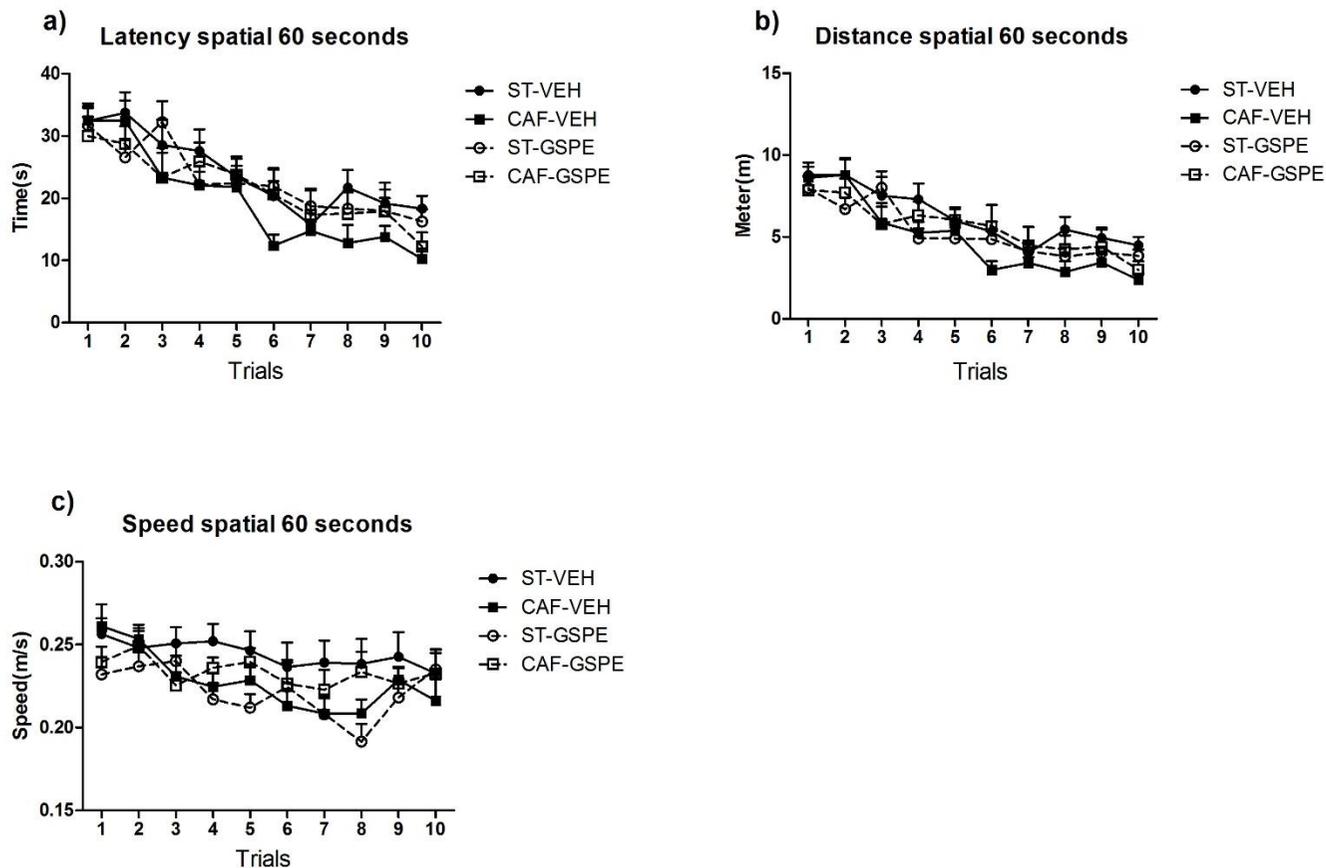
**Figura 6. Composición corporal** a) % de peso de masa grasa, b) % de peso de masa magra, c) % de peso de líquidos corporales total al 1º día, al día 15, al día 30 y al día 45 del experimento en ratas hembras alimentadas con dieta cafetería (CAF) o estándar (ST). Los porcentajes (%) fueron calculados siguiendo la siguiente fórmula ( $100 \times \text{peso de componente corporal} / \text{peso corporal}$ ) y fue expresado como % del peso corporal. Las ratas fueron alimentadas con dieta CAF o ST desde el destete (día 21 de vida) y con y sin la administración de procianidinas de pepas de uva (GSPE). Los datos fueron presentados en medias  $\pm$  error estándar de la media ( $n=11-12$ ). ST: dieta estándar, CAF: dieta cafetería, VEH: administración de vehículo, GSPE: administración de procianidina de pepa de uva.



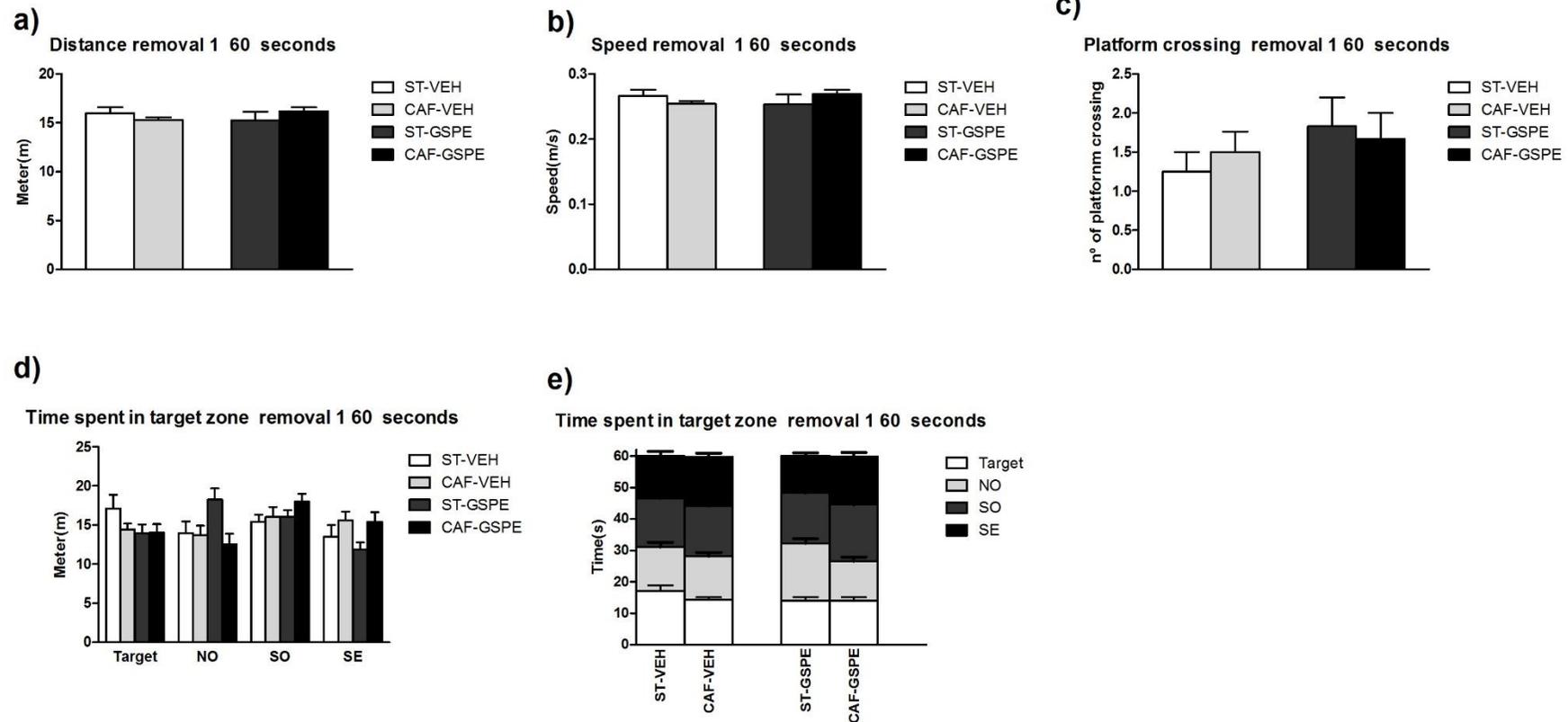
**Figura 7 Consumo de alimentos.** a) % de agua consumida, b) % de pienso consumido, c) % de líquidos totales consumidos, d) % de sólidos totales consumidos durante las 7 semanas que duró el experimento en ratas hembras alimentadas con dieta cafetería (CAF) o estándar (ST). Los porcentajes (%) fueron calculados siguiendo la siguiente fórmula ( $100 \times \text{peso de alimento consumido} / \text{peso corporal}$ ) y fue expresado como % del peso corporal. Las ratas fueron alimentadas con dieta CAF o ST desde el destete (día 21 de vida) y con y sin la administración de procianidinas de pepas de uva (GSPE). Los datos fueron presentados en medias  $\pm$  error estándar de la media (n=11-12). ST: dieta estándar, CAF: dieta cafetería, VEH: administración de vehículo, GSPE: administración de procianidina de pepa de uva. .<sup>a,b</sup> Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los grupos (ANOVA y LSD post hoc, p < 0,05).



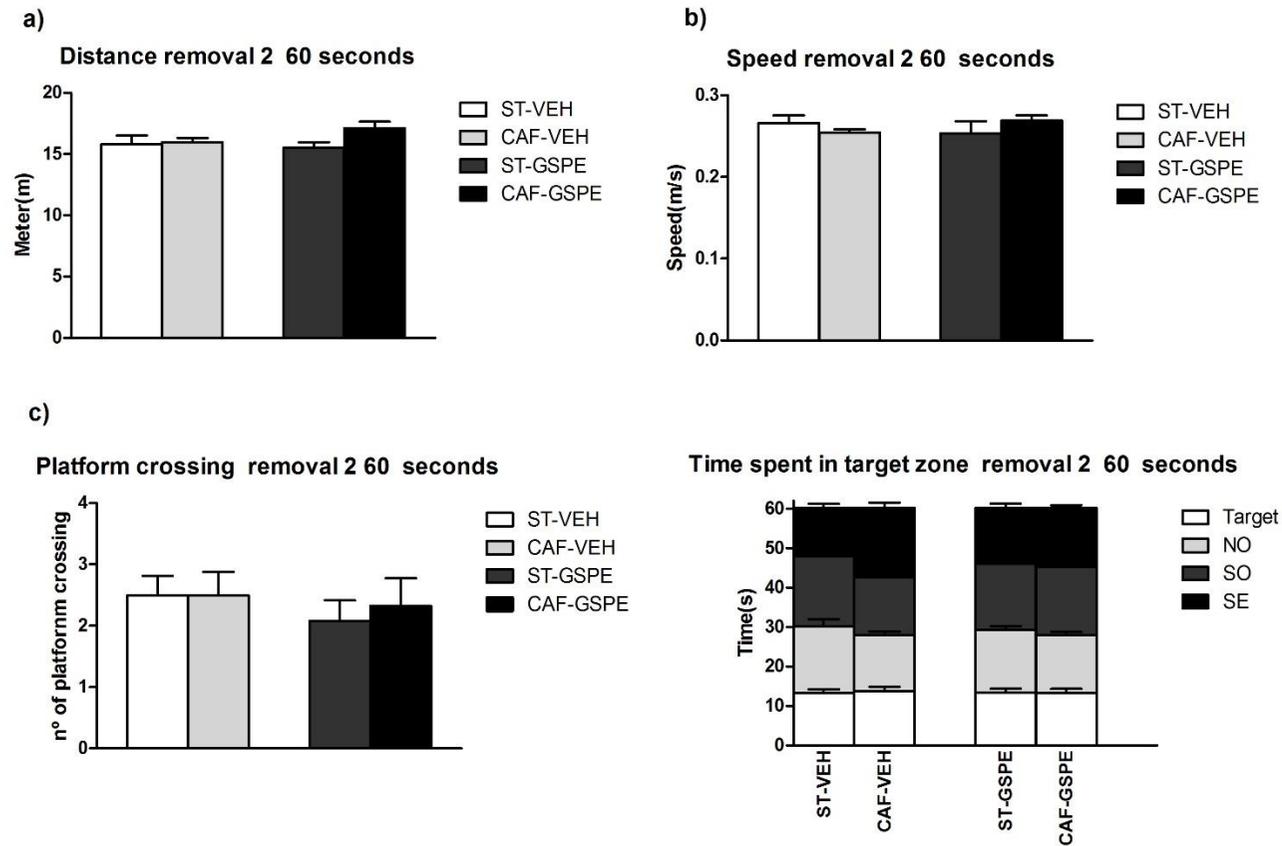
**Figura 8 Pesos de órganos post-mortem.** a) % de peso hepático, b) % de masa grasa retroperitoneal (rWAT), c) % de masa grasa del mediastino (mAT), d) % de masa muscular (gastrocnemio y soleo), e) % de masa cerebral, f) % de masa hipocámpal post-mortem en ratas hembras alimentadas con dieta cafetería (CAF) o estándar (ST). Los porcentajes (%) fueron calculados siguiendo la siguiente fórmula ( $100 \times \text{peso del tejido corporal} / \text{peso corporal}$ ) y fue expresado como % del peso corporal. Las ratas fueron alimentadas con dieta CAF o ST desde el destete (día 21 de vida) y con y sin la administración de procianidinas de pepas de uva (GSPE). Los datos fueron presentados en medias  $\pm$  error estándar de la media ( $n=11-12$ ). ST: dieta estándar, CAF: dieta cafetería, VEH: administración de vehículo, GSPE: administración de procianidina de pepa de uva. <sup>a,b</sup> Las letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas entre los grupos (ANOVA y LSD post hoc,  $p < 0,05$ ).



**Figura 9. Morris Water Maze, Etapa de aprendizaje espacial, cada intento duró 60 segundos** a) Latencia de salida hasta llegar a la plataforma visible, b) Distancia recorrida hasta llegar a la plataforma visible, c) Velocidad del recorrido hasta la plataforma visible en los 10 intentos que duró la prueba. Las ratas fueron alimentadas con dieta CAF o ST desde el destete (día 21 de vida) y con y sin la administración de procianididas de pepas de uva (GSPE). Los datos fueron presentados en medias  $\pm$  error estándar de la media (n=11-12). ST: dieta estándar, CAF: dieta cafetería, VEH: administración de vehículo, GSPE: administración de procianidida de pepa de uva.



**Figura 10. Morris Water Maze, Etapa sin plataforma en 5º día, cada intento duró 60 segundos.** a) Distancia recorrida durante los 60 segundos de búsqueda de la plataforma, b) Velocidad de búsqueda de la plataforma; c) Cantidad de veces que cruza la zona donde estaba la plataforma, d,e) tiempo que pasa en cada cuadrante, el cuadrante target es donde se encontraba la plataforma (expresado por grupos y por cuadrante). Las ratas fueron alimentadas con dieta CAF o ST desde el destete (día 21 de vida) y con y sin la administración de procianididas de pepas de uva (GSPE). Los datos fueron presentados en medias  $\pm$  error estándar de la media (n=11-12). ST: dieta estándar, CAF: dieta cafetería, VEH: administración de vehículo, GSPE: administración de procianidida de pepa de uva.



**Figura 11. Morris Water Maze, Etapa sin plataforma en 10º día, 60 segundos.** a) Distancia recorrida durante los 60 segundos de búsqueda de la plataforma, b) Velocidad de búsqueda de la plataforma; c) Cantidad de veces que cruza la zona donde estaba la plataforma, d) Tiempo que pasa en cada cuadrante, el cuadrante target es donde se encontraba la plataforma (expresado por cuadrantes). Las ratas fueron alimentadas con dieta CAF o ST desde el destete (día 21 de vida) y con y sin la administración de procianididas de pepas de uva (GSPE). Los datos fueron presentados en medias  $\pm$  error estándar de la media (n=11-12). ST: dieta estándar, CAF: dieta cafetería, VEH: administración de vehículo, GSPE: administración de procianidida de pepa de uva.

## Behavioral and metabolic effects of cafeteria diet alone and combined with treadmill exercise in young adult rats

Cigarroa I<sup>1,2</sup>, Calmarí A<sup>3</sup>, del Bas JM<sup>3</sup>, Lanza JF<sup>1,4</sup>, Capdevila LH, Arola LP<sup>5</sup> Escorihuela RM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut de Neurociències, Departament de Psicologia i Medicina Legal, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Spain.  
<sup>2</sup>Carrera de Kinesiólogia, sede Los Angeles, Facultad de Salud, Universidad Santo Tomás, Chile  
<sup>3</sup>Centre Tecnològic de Nutrició i Salut (CTNS), TECNIO, CEICS, Reus, Spain.  
<sup>4</sup>Laboratori de Psicologia de l'Esport, Departament de Psicologia Bàsica, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra Spain.  
<sup>5</sup>Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Nutrigenomics Research Group, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain.

### Background

During the last decades, overweight, obesity and the incidence of metabolic syndrome have been progressively increasing [1, 2], in part as a consequence of unhealthy lifestyles [3] and the lack of exercise from childhood and adolescence [4,5].

Several animal models of diet-induced obesity have been developed, and the cafeteria diet (CAF diet) has been consistently shown to induce obesity and metabolic syndrome in adult rats [6,7].

### Methods

**Experiment 1:**  
Male and female Sprague Dawley rats were fed from weaning and over 8 weeks with either a standard chow (ST diet) or a CAF diet [3]. Rats were tested in the Open field, Hold board, social play and elevated plus maze.

**Experiment 2:**  
Female rats were fed with either a ST diet or CAF diet and trained in the treadmill (0, 12 or 16 m/min) during the same period. The animals were tested in the open field (OF) and the two-way active avoidance learning (shuttle-box, SB).

In both experiments we measured body weight gain, body and liver weight, retroperitoneal white adipose tissue (RWAT) and plasma levels of glucose, insulin, R-QUICKI, TG, CHOL, NEFAs, leptin, adiponectin.

### Objetives

**Experiment 1:**  
Evaluate the behavioral and metabolic effects of a CAF diet in adolescent/young adult rats [8,9].

**Experiment 2:**  
Evaluate whether exercise could counteract the negative effects of CAF diet.

### Results

**Experiment 1.**

**Figure 1.** Behavior in the elevated plus maze test. The number of grid entries (A), distance traveled in the enclosed arms (B), percentage of entries into the open arms (C) and percentage of time spent in the open arms (D).

**Figure 2.** Social play (A) (playing), (B) (backgrounding), (C) social grooming (D) (total) and (E) the total number of social play behaviors.

**Figure 3.** Response to novelty in the hole board, number of head dips (A).

**Figure 4.** The increase of body weight and the time spent sleeping (B).

**Experiment 2.**

**Figure 5.** Distance traveled and time spent in the center of the open field during the first 5 min (A and B, respectively).

**Figure 6.** Correct responses (continuous, A) and averaged escape latencies (B) in trials of ten trials over the ten-day active avoidance session.

**Table 1.** Growth and glucose parameters in experiment 1

Parameter	ST	CAF
Body weight (g)	450 ± 10	550 ± 15
Adipose tissue (g)	10 ± 2	25 ± 3
Plasma glucose (mg/dL)	100 ± 5	110 ± 8
Plasma insulin (µU/mL)	1.5 ± 0.2	2.5 ± 0.4
R-QUICKI	0.015 ± 0.002	0.010 ± 0.001
TG (mg/dL)	50 ± 10	100 ± 20
CHOL (mg/dL)	150 ± 20	200 ± 30
NEFAs (µg/mL)	100 ± 20	200 ± 30
Leptin (pg/mL)	100 ± 20	200 ± 30
Adiponectin (µg/mL)	100 ± 20	50 ± 10

**Table 2.** Growth and glucose parameters in experiment 2

Parameter	ST	CAF
Body weight (g)	450 ± 10	550 ± 15
Adipose tissue (g)	10 ± 2	25 ± 3
Plasma glucose (mg/dL)	100 ± 5	110 ± 8
Plasma insulin (µU/mL)	1.5 ± 0.2	2.5 ± 0.4
R-QUICKI	0.015 ± 0.002	0.010 ± 0.001
TG (mg/dL)	50 ± 10	100 ± 20
CHOL (mg/dL)	150 ± 20	200 ± 30
NEFAs (µg/mL)	100 ± 20	200 ± 30
Leptin (pg/mL)	100 ± 20	200 ± 30
Adiponectin (µg/mL)	100 ± 20	50 ± 10

### Conclusions

Exercise is able to decrease plasma levels of TG and NEFAs and RWAT weight and thereby partly counteract the negative metabolic effects of CAF diet.

### References

- [1] Janssen, I. et al. (2005). Obesity Reviews, 8(2), 123–132.
- [2] Odgen, CL. et al. (2006). JAMA, 295(13), 1549–1555.
- [3] Lanza, JF. et al. (2014). Plos one, 9(1), 1–8.
- [4] Chaddock, et al. (2011). Journal of the International Neuropsychological Society, 17, 1–11.
- [5] Ogden, C. et al. (2006). JAMA, 295, 1549–55.
- [6] Calmarí, A. et al. (2010). International Journal of Obesity, 34, 831–839.
- [7] Sampedro, BP. et al. (2011). Obesity, 19, 1109–1117.
- [8] Sagoe, SC. et al. (2012). Physiology and Behavior, 105(5), 1104–1111.
- [9] Canetti, L. et al. (2002). Behavioural Processes, 60(2), 157–164.

### More Information?

Igor Cigarroa: [icigarroa@santotomas.cl](mailto:icigarroa@santotomas.cl)  
Rosa María Escorihuela: [rosamaria.escorihuela@uab.cat](mailto:rosamaria.escorihuela@uab.cat)

### Acknowledgements

This work was supported by Dirección General de Investigación (PSI2011-29807-C02\_01) IC was supported by a pre-doctoral fellowship from Universidad Santo Tomás, Chile. JFL received a pre-doctoral fellowship from the Generalitat de Catalunya (FI-DGR 2011)

Figura 12. Poster presentado en el IV Scientific conference integrative neurobiology, Barcelona, España. Abril del 2014

